ORGANISMES
DES HYDROLATS ET DES SOLUTÉS

PAR

HENRI BARNOUVIN
Pharmacien supérieur,
PHARMACIEN DE PREMIÈRE CLASSE,
EX-INTERNE DES HÔPITAUX DE PARIS,
LAURÉAT DE L'ÉCOLE DE PHARMACIE, DES HÔPITAUX,
ET DE LA SOCIÉTÉ DE PHARMACIE,
CHIMISTE DIPLÔMÉ DE LA VILLE DE PARIS,
INSPECTEUR DES ÉTABLISSEMENTS CLASSÉS,
PHARMACIEN DE L'ASSISTANCE PUBLIQUE A PARIS.





PARIS
SOCIÉTÉ D'ÉDITIONS SCIENTIFIQUES
PLACE DE L'ÉCOLE DE MÉDECINE
4, Rue Antoine-Dubois, 4

1896

PRÉAMBULE

Le sujet qui fait l'objet de ce travail est rempli de difficultés ; lorsque je l'abordai pour la première fois, il y a un certain temps déjà, j'étais loin de le supposer aussi compliqué ; mais, une fois aux prises avec cette étude, j'ai cru devoir y persévérer, trouvant du reste dans l'intérêt qu'elle m'offrait une large et suffisante compensation. Je n'ai pas à insister d'ailleurs sur l'utilité que peuvent avoir de pareilles recherches ; tous ceux qui ont vu leurs hydrolats, leurs solutés se remplir tour à tour, et spontanément, en quelque sorte, de flocons, de nuages plus ou moins compacts ; ceux qui ont assisté à ce phénomène curieux d'une eau, incolore d'abord, se transformant peu à peu, et quelquefois soudainement en un liquide coloré de teintes diverses ; ceux qui ont constaté combien sont particuliers et étranges les caractères que présentent, sous le microscope, ces différentes productions, contre lesquelles les filtrations les mieux faites, ou les soins les plus minutieux demeurent sans effet ; ceux-là, dis-je, ne trouveront peut-être pas inutiles les efforts que j'ai tentés pour élucider une question qui intéresse tout à la fois la pratique et la science.

Mes premières recherches ont eu pour objet les végétations des hydrolats ; mais, celles-ci m'ont conduit tout naturellement à l'étude des organismes des solutés ; des unes aux autres, il n'y avait qu'un pas. Et puis, une fois engagé dans cette voie, comment y renoncer ? C'est ici le cas, ou jamais, de rappeler cette opinion de M. le professeur Marchand : « Celui qui aura une seule fois examiné au microscope, à un faible grossisse-

ment de 150 à 200 diamètres, une goutte d'eau stagnante, comprendra que des savants (sans comparaison, bien entendu) aient pu passer leur vie à essayer de se reconnaître au milieu de ces êtres si divers, de classer, de surprendre les secrets de leurs relations, de leurs amours et de leur filiation. » (L. Marchant, *Botanique cryptogamique*, p. 236).

La question qui m'occupe n'est pas neuve, tant s'en faut. Les premières observations qu'elle suscita sont antérieures au traité de Soubeiran, dont la première édition remonte déjà à plus de 60 ans ; avant lui, certains observateurs cherchant à expliquer la nature des végétations observées dans les eaux distillées, avaient émis l'opinion que l'huile essentielle se transformait en mucilage ; c'est à cette conclusion que fut conduit Banhoff, lorsqu'ayant fait dissoudre dans l'eau distillée des essences de citron, de valériane, de menthe et de fenouil, et ayant abandonné le produit à lui-même dans des vases bien bouchés, il y trouva, au bout de quelques semaines, un dépôt mucilagineux. Deyeux avait observé lui-même une pareille formation de matière muqueuse dans l'hydrolat de fleurs d'oranger. Soubeiran, qui possédait à un si haut degré l'esprit scientifique, avait constaté que ces dépôts particuliers étaient formés de globules organisés ; « ils sont considérés, écrivait-il, comme une véritable formation organique de l'ordre des végétaux mycodermiques. » (E. Soubeiran, *Traité de pharmacie*, *Eaux distillées*.)

L'année 1832 est une date remarquable au point de vue de la présente étude ; à cette époque, en effet, un naturaliste italien, Biasoletto, dans un mémoire sur les algues, qu'a bien voulu signaler à mon attention M. le professeur Marchand, Biasoletto, dis-je, décrivit un certain nombre d'organismes qu'il avait observés soit dans les eaux distillées, soit dans différents liquides pharmaceutiques, solutions, infusions, mixtures, etc. *(Biasoletto-Trieste, 1832. Di algune Alghe microscopiche, saggio del Dr B. Biasoletto).* Aux yeux de cet observateur, les

organismes dont il s'agit sont des algues, appartenant notamment au genre *Hygrocrocis* ; on comprend très bien qu'à l'époque où il entreprit ces recherches, il ait été conduit à cette interprétation ; mais depuis lors, des observations plus approfondies, dues pour une grande partie à M. le Dr L. Marchand, ont montré que ces *Hygrocrocis* sont des champignons, dont les formes anormales sont la conséquence des conditions spéciales dans lesquelles ils se trouvent placés au sein des liquides (*Dr L. Marchand, C.-R. acad. des sc.*, novembre 1878, et *Botanique cryptogam.*, 2e fasc., 1883, page 187).

Les observations de Biasoletto appellent d'ailleurs quelques commentaires. Pour lui, les *Hygrocrocis* constituent un genre très riche en espèces. Il suffit, pour s'en convaincre, de se reporter aux descriptions qu'il donne des *Hygrocrocis Abrotani*, *cristallina*, *Phillyreæ*, *Naphæ*, etc. Voici, comme exemple, les caractères qu'il attribue à l'*Hygrocrocis Abrotani* : *Fila e centro cinerascente exeuntia*, *hyalina*, *aracnoidea*, *ramosissima ; rami divaricati*, *flexuosi*, *articulati*, *ramulis alternis obsessis*, *quandoque dichotomis*, *furcellatis ; articulis diametro æqualibus.*

Natans in aqua distillata herbæ recentis artemisiæ comphoratæ et ad parietem adfixa.

Or, il faut remarquer que, dans cette description, comme dans les autres d'ailleurs, il n'est fait aucune mention des organes reproducteurs ; en outre, les caractères que Biasoletto attribue aux différents *Hygrocrocis*, et sur lesquels il s'appuie pour établir des espèces, présentent entre eux la plus grande analogie ; c'est ainsi qu'on retrouve à tout instant les expressions : « *Fila hyalina* » *Fila arachnoïdea* », « *Articulis diametro æqualibus* », etc. J'estime qu'une classification qui, négligeant les organes de reproduction, n'envisage que certains caractères, très vagues d'ailleurs, de l'appareil végétatif, n'est pas de nature à justifier la distinction d'un tel luxe d'espèces. Aussi bien, dois-je le dire, après un grand nombre de tentatives infructueuses, éprouve-t-on un grand embarras pour rattacher à tel

ou tel *Hygrocrocis* considéré comme spécifique par Biasoletto, les différents organismes que l'on rencontre dans les eaux distillées : mes observations ne me permettent pas de croire, en effet, que ces *Hygrocrocis* des hydrolats soient aussi variés que l'admettait ce naturaliste.

Mais, à cette époque, on doit le reconnaître, la botanique cryptogamique était à peine née. Il fallait que les travaux considérables de MM. Tulasne, de Bary, Thuret, Bornet, Marchand, Van Tieghem, pour ne citer que les principaux, vinssent jeter un jour nouveau sur ces difficiles questions, pour que l'étude des végétations des hydrolats et des solutés fût du moins abordable.

Quelle est donc la nature de ces différents organismes ? On s'accorde généralement à les considérer comme des végétaux inférieurs, appartenant au groupe des cryptogames. Mais parler ainsi, c'est laisser la question tout entière ; il suffit, pour s'en convaincre, de soumettre à l'observation le premier venu de ces dépôts, la plus petite ou la moins apparente de ces végétations ; on y trouve aussitôt tout un monde, sorte de « masse grouillante d'infiniment petits » (prof. Marchand, Bot. cryptog., p. 233), capables de dérouter, et quelquefois de décourager l'observateur le mieux disposé. Les organismes des solutés, comme ceux des hydrolats, sont, en effet, des plus divers, et souvent des plus inattendus. Une foule de conditions peuvent, à ce point de vue, faire sentir leur influence : conditions de milieu, de température, d'aération, d'éclairage, et bien d'autres encore. Et, puisque je parle de milieu, ne sait-on pas que telle végétation qui se développe dans les liquides d'un laboratoire ne se produit pas dans ceux d'un autre? De même, les hydrolats d'une officine située à la ville ne contiendront pas les mêmes organismes que les eaux distillées d'une pharmacie de campagne. Ce que Pasteur a dit, en un mot, de la différence relative du nombre de germes de levûre et de torulacées dans l'air d'un laboratoire

et dans celui d'un appartement, est vrai aussi pour les organismes qui font l'objet de ce travail (v. Pasteur, Études sur la bière, 1876, chap. III). Il ne faut pas oublier en outre que la présence de l'eau exerce ici une influence considérable, qui peut aller jusqu'à rendre tout à fait méconnaissables les organismes en observation. Leur détermination devient alors des plus laborieuses. On doit avouer cependant qu'elle présente en elle-même un grand intérêt: il en est de même de la question de savoir si une production donnée est propre à tel ou tel hydrolat, à tel ou tel soluté, s'il existe, en un mot, une végétation de l'eau de menthe, de l'eau de roses, ou un organisme d'un soluté quelconque. Ces différents points m'ont paru dignes d'attention, et j'ai cherché à les élucider.

Bien que les recherches dont ce travail présente le résumé aient été pour moi l'objet d'observations fort longues, et souvent pénibles, je ne prétends pas avoir résolu, à beaucoup près, toutes les difficultés du sujet. Quoi qu'il en soit, j'ai cru devoir, comme l'indique le titre que j'ai adopté, diviser cette thèse en deux parties : 1° Étude des organismes des hydrolats ; 2° Étude des organismes des solutés. Chaque partie comprend elle-même plusieurs chapitres, destinés à rendre l'exposé des faits observés plus méthodique et plus clair.

PREMIÈRE PARTIE

ÉTUDE DES ORGANISMES DES HYDROLATS

« Les cryptogames se rencontrent dans toutes les eaux, on a même dit dans les eaux distillées » (1), a écrit M. le professeur Marchand ; la présente étude va me permettre de confirmer une fois de plus cette opinion (2).

Le résultat de mes observations m'autorise à établir trois divisions parmi ces organismes des hydrolats ; ces divisions sont les suivantes : Champignons, bactéries, algues.

L'ordre que j'indique ici correspond à l'importance même que prennent ces différentes productions dans les eaux distillées que j'ai étudiées ; j'ai constaté, en effet, que les champignons y sont plus fréquents que les bactéries, et celles-ci beaucoup plus communes que les algues. Je laisse donc de côté la question des affinités des bactéries avec les champignons ou les algues, l'ordre que je crois devoir adopter ayant simplement pour but de simplifier l'énumération des faits.

Je pourrais ajouter que cet ordre est d'ailleurs assez naturel ; les bactéries ont, en effet, leur place marquée entre les champignons et les algues ; elles représentent même, d'après MM. Davaine, Rabenhorst, Cohn, les plus dégradées de ces dernières ; c'est d'elles que M. E. Marchand a dit : « On sent que ces êtres,

(1) Dr G. Marchand. *Botan. cryptogam.*, 1er fascicule, page 115.

(2) Les hydrolats de cannelle et de laurier cerise sont à peu près les seuls qui résistent à l'envahissement, le premier pouvant présenter cependant exceptionnellement des organismes.

physiologiquement alliés aux champignons, sont entraînés morphologiquement vers les algues. » (Dr L. Marchand, *loc. cit.*, 2me fasc., page 238).

Les champignons, les bactéries et les algues feront donc l'objet de trois chapitres distincts. Mais, je ne saurais passer sous silence le côté pratique de cette étude, et, dans un quatrième chapitre, je m'occuperai des altérations qui sont liées à l'existence de ces végétations, et des moyens les plus propres à y remédier.

En adoptant la division ci-dessus, division que j'ai d'ailleurs suivie pour les organismes des solutés, j'ai envisagé plus particulièrement mon sujet au point de vue de l'histoire naturelle, m'attachant à déterminer avant tout quels sont les organismes inférieurs capables de végéter dans ces conditions spéciales. Je dois reconnaître cependant que cette manière de comprendre la question n'est pas sans inconvénients lorsqu'on en considère le côté pharmaceutique A ce point de vue, il eût été préférable de décrire, à propos de chaque hydrolat, les altérations qui lui sont propres. Aussi me suis-je réservé de présenter mes conclusions sous une forme qui me permettra, comme on le verra plus loin, de tenir compte de ces considérations.

Chapitre I

Champignons

Contrairement à ce qu'on aurait pu supposer, contrairement même à une opinion qui a eu cours autrefois, les végétations qui se développent dans les eaux distillées sont bien plus souvent des champignons que des algues. Etant donné un tel milieu, ce résultat peut causer tout d'abord quelque surprise ; mais le fait s'explique aisément, lorsqu'on réfléchit à l'abondance des spores de champignons dans l'air qui nous entoure ; il me suffira de rappeler à cet égard les observations si concluantes de M. Miquel (V. *C. r. acad. des sc.*, 1879) ; ces spores y prédominent certainement sur celles des algues ; d'ailleurs, comme l'a fait observer Pasteur (V. *Etudes sur la bière*, p. 67), l'état physique des spores de moisissures — et ce sont elles que l'on rencontre d'ordinaire dans les hydrolats — rend compte de leur dispersion dans l'atmosphère ; ces spores sont, en effet, des organes à l'état sec, que le moindre souffle soulève et emporte.

Les champignons que l'on observe dans les eaux distillées appartiennent donc, comme on pouvait s'y attendre, aux espèces inférieures. Ils se rattachent presque tous aux Hyphomycètes, et, parmi ceux-ci, aux groupes des Mucédinées et des Dématiées (Cooke et Berkeley, *les Champignons*, p. 68).

Peut-être n'est-il pas inutile de présenter ici quelques considérations sur les caractères mêmes de ces champignons filamenteux, et de rappeler la place que leur ont attribuée dans la classification les mycologues les plus autorisés.

Bien que ces deux groupes, et en particulier celui des Mucédinées, comprennent des végétaux disparates, on ne saurait nier que les caractères morphologiques de leurs filaments mycéliens, la propriété qu'ils ont de produire des spores acrosporées, enfin, et surtout leurs habitudes biologiques, constituent un ensemble de faits fort remarquables. La plupart de ces HYPHOMYCÈTES ne sont, il est vrai, que des états particuliers, des phases, ou des formes conidiales d'espèces supérieures ; mais, si l'observation vient d'ordinaire à l'appui de cette opinion, il faut bien dire qu'il est souvent difficile de rattacher à une espèce donnée telle ou telle période de la vie de la Mucédinée ; on est toujours fondé d'ailleurs à considérer comme un état constant celui qui correspond au champignon filamenteux, porteur de conidies, à l'état Mucédinien, en un mot ; or, cet état est des plus fréquents et des plus fixes, je peux le dire, parmi les champignons des hydrolats.

Nous voyons, du reste, ces deux groupes prendre place, avec quelques variantes, dans les différentes classifications qui ont été successivement proposées ; c'est ainsi que M. Berkeley fait des Mucédinées de Link une subdivision de ses champignons *Haplomycètes* (ἁπλοος, simple), et que M. Bertillon les considère comme un groupe parmi ses *Nématès* (νημα, fil). Quant aux Dématiées de Fries, elles sont considérées par M. Berkeley comme un groupe autonome des *Haplomycètes*. Les *Sclérotrichés* (σκληρος, rigide et τριχός, cheveu, de M. Bertillon représentent de même à peu près les Dématiées de Fries et surtout de Berkeley. Enfin, si l'on se reporte à la classification de Léveillé (in Dictionnaire de D'Orbigny), on voit les deux divisions des *Trichosporés* et *Arthrosporés* correspondre, à peu de chose près, aux Mucédinées de Link, à une partie des *Haplomycètes* de Berkeley, et des *Nématés* de Bertillon.

Je dois rappeler que cette classification de Léveillé repose sur la considération des rapports de la spore avec sa cellule-mère et de

la forme de celle-ci. Or, au point de vue particulier qui m'occupe cette classification me paraît présenter certains avantages ; elle permet, en effet, d'assigner le plus souvent une place, ne fût-elle que provisoire, à tel ou tel champignon filamenteux, en mettant à profit l'un des caractères les plus saillants de ces végétaux inférieurs, je veux parler de la disposition même des spores, disposition qui prend dans le cas présent une grande importance, en raison de la similitude de l'appareil végétatif, du mycélium, en un mot.

A ce dernier point de vue, la distinction établie entre les Mucédinées et les Dématiées me paraît devoir être conservée. Les unes, en effet, ont un mycélium constitué par des filaments généralement mous et incolores, les autres, au contraire, par des filaments rigides et plus ou moins noirs. J'ajoute qu'une telle distinction me paraît conforme à cette observation déjà ancienne de MM. Van Tieghem et Le Monnier, que la caractéristique d'une famille quelconque de champignons doit être tirée aussi bien du système végétatif ou mycélium, que des appareils de la reproduction.

On ne saurait méconnaître d'ailleurs que des recherches plus récentes, conduites avec persévérance, ont eu pour résultat de nous éclairer peu à peu sur la véritable nature d'un certain nombre de Mucédinées, sur la signification exacte de ces formes filamenteuses. C'est ainsi que les HYPHOMYCÈTES, ou champignons filamenteux de Brongniart, qui formaient le premier ordre de sa classification, ont été répartis sous ce même nom d'HYPHOMYCÈTES, ou moisissures, dans les divers ordres du groupe des champignons. On ne saurait mieux faire que de consulter, à ce sujet, le tableau qu'ont donné MM. H. Beauregard et V. Galippe, dans leur traité de micrographie (1). Ces temps derniers enfin, M. le professeur Marchand a publié un tableau synoptique de la classe des *Mycophytes*, qui permet de classer facilement la plupart des champignons des hydrolats

(1) Guide pratique pour les travaux de micrographie. H. Beauregard et V. Galippe. 1888, p. 325.

— et, je pourrais ajouter, des solutés — et en particulier ces formes « imparfaites » réunies par l'auteur sous le nom d'*Asporomycés-aconidiés* et *conidiés ;* exemple : 1re série, des *Himantia ;* 6e série, des *Tarula ;* 7e série, des *Penicillium ;* 8e série, des *Aspergillus (Synopsis* et *Tableau synoptique des familles qui composent la classe des Mycophytes*, par M. Léon Marchand, Paris, 1895).

Avant d'aborder l'énumération des différents types que j'ai observés, je crois utile d'insister sur quelques faits généraux qui s'appliquent à l'ensemble de mes recherches sur les champignons des eaux distillées.

De toutes les causes qui compliquent l'étude de ces végétaux, la principale se trouve liée aux conditions mêmes dans lesquelles ils se trouvent placés au sein des hydrolats. Or, ces conditions comprennent trois cas : végétation dans l'eau, manque d'air, insuffisance d'éléments nutritifs. Les modifications morphologiques qui en résultent sont souvent si profondes que les organismes observés ne ressemblent en rien à ce qu'ils sont. lorsqu'ils vivent dans les conditions ordinaires.

Ce serait une grande erreur de croire que la détermination de telle ou telle Mucédinée qui a végété pendant un certain temps dans un hydrolat est aussi facile à faire que celle d'une même espèce ayant vécu dans un tout autre milieu. Il existe à cet égard des différences profondes, qui intéressent aussi bien la forme des éléments que leurs dimensions, leur coloration, leur contenu. Lorsque j'ai commencé cette étude, j'ai été bien des fois dérouté par ces caractères anormaux ; depuis, M. de Seynes a appelé l'attention sur ces faits ; d'autres naturalistes, MM. Marchand et Van Tieghem, notamment, ont publié des observations du même ordre. J'ai cherché, de mon côté, à faire la part de chacune des causes que je viens de mentionner. Or, je dois conclure de mes observations, à cet égard, que la pauvreté des hydrolats en substances nutritives exerce une très grande influence sur la marche du phénomène. Lorsqu'on

ajoute, en effet, à l'eau distillée, au début de l'envahissement, quelques gouttes d'un liquide nourricier (liquide Raulin, par exemple), les petits champignons ne présentent plus, tout d'abord, les caractères que j'ai indiqués ; mais abandonne-t-on à lui-même, dans un flacon bouché, l'hydrolat ainsi fertilisé, on ne tarde pas à observer des modifications profondes dans la forme des éléments, modifications de même nature que celles que nous



Fig. I.

offrent les *Hygrocrocis* en général. Dans ce cas particulier, une nouvelle cause intervient : c'est le manque d'oxygène, l'insuffisance d'air, qui détermine les formes bizarres que l'on constate ; ces particularités sont de même ordre que celles qu'a signalées Pasteur au sujet de l'*Aspergillus glaucus*, végétant avec insuffisance d'air (Pasteur, *loc. cit.*) ; les partie du champignon qui viennent s'épanouir librement dans le

liquide aéré sont jeunes, translucides, de petit diamètre et ramifiées à la manière ordinaire. Celles qui sont engagées vers les parties épaisses, enchevêtrées, où l'oxygène ne peut pénétrer, parce qu'il est absorbé par les parties périphériques, sont plus granuleuses, plus grosses avec renflements. Ainsi que le montre la figure I, relative à des végétations des hydrolats de roses et de menthe, on rencontre dans les eaux distillées des formes analogues, ou du moins très voisines. M. L. Marchand a montré lui-même que l'*Hygrocrocis arsenicus* présentait des particularités du même genre (Dr L. Marchand, *loc. cit.*).

Je dois faire observer, d'ailleurs, que les déformations subies par les champignons des hydrolats varient quelquefois dans des limites très sensibles ; tandis que certains mycéliums ne présentent guère que des dilatations, d'autres, au contraire, offrent de distance en distance des renflements souvent considérables, renflements tantôt isolés, tantôt réunis en séries, et souvent remplis de granulations. Il me paraît difficile d'expliquer ces différences morphologiques chez des êtres aussi voisins, placés dans des condidions identiques. Qu'il me suffise de rappeler que M. Pasteur a constaté que les changements subis par le *Mucor*, par exemple, sont bien plus prononcés que pour le *Penicillium* ou l'*Aspergillus*.

Une troisième cause, enfin, contribue puissamment à produire ces différentes déformations ; c'est la végétation dans l'eau. M. le professeur Marchand a mis en lumière cette influence et montré qu'il fallait lui attribuer en partie la formation des *Hygrocrocis*. Mes observations sur les végétations des hydrolats me conduisaient à penser que cette eau, considérée comme milieu, joue en somme le rôle le plus actif ; elle suffit, à elle seule, pour imprimer aux champignons des eaux distillées des caractères morphologiques spéciaux ; abstraction faite des causes que j'ai indiquées précédemment, elle est assez puissante pour déterminer la plupart des particularités que j'ai énumérées. L'appareil végétatif — et je

devrais ajouter les organes reproducteurs — du champignon échappent rarement, en un mot, aux effets de la submersion, effets qui peuvent être plus ou moins accentués, selon sa durée, suivant que l'hydrolat est plus ou moins aéré ou chargé de principes assimilables. La question d'âge prend ici une grande importance, les déformations étant d'autant plus accusées que l'organisme est plus vieux. M. de Seynes, qui semble admettre aussi l'influence de la raréfaction de l'air, a appelé avec beaucoup d'autorité l'attention sur ce point (M. de Seynes, *in Dictionn. Dechambre*, 1875).

Je dois dire cependant que ces déformations ne sont pas absolument constantes. La principale exception à cet égard m'a été fournie par les moisissures noires appelées *Dématiées*, considérées par les uns comme autonomes, et par les autres comme une simple forme, un stade particulier des Mucédinées. Je pense que la structure spéciale de ces moisissures noires, constituées par des filaments mycéliens rigides et durs. est de nature à expliquer leur résistance à l'action de l'eau. Quoi qu'il en soit, ces exceptions sont rares, et le plus souvent, à une moisissure donnée correspond ce que je crois devoir appeler la forme aquicole.

Mais, d'après ce que j'ai dit jusqu'ici, on pourrait croire que cette forme aquicole est limitée aux seuls *Hygrocrocis;* or, il n'en est rien, et, avant d'aller plus loin, je dois insister précisément sur la distinction qu'il convient d'établir entre ceux-ci et une autre forme fort intéressante, que je me suis appliqué à mettre en lumière, je veux parler de la forme levûre. Bien qu'on puisse observer parfois tous les passages entre les *Hygrocrocis* et cette forme particulière, passages qui sont représentés par ces filaments toruleux, raccourcis, ces dilatations, ces chapelets de grosse cellules si bizarres, il n'en est pas moins vrai qu'on rencontre parmi les végétations des hydrolats des organismes présentant absolument les caractères morphologiques des levûres, correspondant par conséquent à

cette période où le champignon est «plus ferment que moisissure» (Pasteur, *loc. cit.* p. 136). Parmi les exemples de ce genre qu'il m'a été donné d'observer, je dois citer tout particulièrement celui qui m'a été fourni par l'hydrolat d'hysope, et qui fait l'objet de la figure II. Tout d'abord, cet hydrolat avait présenté des flocons opalins, constitués par des filaments de myréliums aquicoles, plus ou moins semblables à ceux qu'on observe d'ordinaire dans les eaux distillées. Après avoir abandonné cet hydrolat à lui-même pendant quelques mois, j'examinai de nouveau les flocons, et j'observai, au milieu des débris de filaments et de détritus divers, des cellules arrondies, présentant au centre, soit des vacuoles brillantes, soit des granulations groupées en une sorte de noyau, séparées les unes et les autres de la périphérie par une zone transparente : à côté de ces cellules, tantôt isolées, tantôt réunies par deux, se trouvaient des organismes allongés, ovoïdes, à contours ondulés, légèrement renflés à une extrémité, et contenant deux ou trois vacuoles brillantes (V. fig. II).



Fig. II.

Comment expliquer la présence de ces productions en un tel milieu ? Il résulte des travaux de Pasteur *(loc. cit.)*, que

es moisissures vulgaires peuvent prendre le caractère ferment quand on les fait vivre sans air, ou avec des quantités d'air trop petites pour que leurs organes en soient entourés autant qu'il est nécessaire à leur vie de plantes aérobies. Or, c'est là précisément le cas des moisissures des eaux distillées, et il est vraisemblable que selon la nature du milieu, suivant, par conséquent la composition de l'hydrolat, les unes peuvent revêtir la forme levûre, tandis que les autres conservent les caractères des *Hygrocrocis*. L'existence de cette forme levûre au sein des hydrolats est assurément fort étrange ; mais, comme l'a montré l'auteur précité, les ferments n'ont qu'à un degré plus élevé un caractère propre à beaucoup de moisissures vulgaires, sinon à toutes, à savoir d'être tout à la fois aérobies ou anaérobies, suivant les conditions où on les place.

Etant donnée la composition de l'hydrolat d'hysope — et, je pourrais dire des hydrolats en général — on ne saurait admettre ici la transformation d'une moisissure en levûre véritable ; ce point a bien son importance, car il constitue un argument de plus en faveur de la théorie qui repousse la transformation possible des moisissures en levûres proprement dites. Mais, on conçoit très bien que ces formes aient pu faire illusion, et qu'en observant sous le microscope des organismes en forme de levûres, succédant à une Mucédinée quelconque, on en ait conclu que celle-ci se transformait réellement en levûre. L'exemple des levûres des hydrolats montre bien que ce phénomène n'est pas spécial aux liquides sucrés, et, à ce point de vue, un tel résultat est aussi intéressant, me semble-t-il, qu'il est inattendu. Les observations de cette nature établissent, en effet, que cette forme levûre peut apparaître dans d'autres liquides que ceux qui constituent son milieu naturel, et, que dans le cas de l'hydrolat d'hysope en particulier, il ne peut y avoir de doute sur l'origine de la plante observée, qu'il est impossible, en un mot, de la considérer comme une levûre véritable, un *Saccharomyces*.

Mais, je reviens maintenant aux *Hygrocrocis* proprement dits. Peut-on, à l'exemple de Biasoletto, en distinguer plusieurs espèces ? Je ne crois pas qu'on soit fondé à le faire. Les différentes formes que nous offrent ces *Hygrocrocis* des hydrolats n'ont rien de spécifique : tous ces végétaux se ressemblent plus ou moins, et, si tel caractère vient à s'accentuer plutôt que tel autre, c'est qu'un des facteurs dont il a été question précédemment fait sentir son influence prépondérante. A ce point de vue, certaines particularités de ces *Hygrocrocis* des hydrolats méritent de fixer un instant l'attention. C'est ainsi que j'ai dit au début de ce travail que la végétation des moisissures au sein de l'eau pouvait modifier leur contenu. Bien souvent, en effet, les filaments mycéliens se montrent remplis de petits corps sphériques, d'aspect brillant, qu'à première vue on prendrait pour des spores ; au début de mes observations, j'avais même cru pouvoir les considérer ainsi. La figure III reproduit un champignon de l'hydrolat de roses présentant cette particularité.

J'avais constaté d'ailleurs que ces corps sphériques sont incapables de germer. L'action de certains réactifs — acide sulfurique et teinture d'iode — m'a conduit à cette conclusion qu'on doit les considérer comme des vacuoles du protoplasma ; voici, en effet, ce que j'ai observé : sous l'influence de l'acide sulfurique étendu, et après un contact de dix à quinze minutes, la plupart des corpuscules brillants perdent leur forme ; certains filaments ne présentent plus qu'un contenu granuleux : après une heure ou deux, quelques filaments, dont la résistance est sans doute plus grande, peuvent offrir un aspect brillant, mais la matière qui leur donne cette propriété a perdu alors ses caractères morphologiques particuliers ; les corpuscules, de sphériques qu'ils étaient d'abord, sont devenus oblongs ; on en voit çà et là qui semblent s'être fusionnés en une masse unique et allongée dans le sens même du filament mycélien ; les rares corpuscules qui demeurent sphériques éprouvent une rétraction

et diminuent de volume, de telle sorte qu'ils se trouvent alors nettement séparés de la paroi avec laquelle ils étaient presque en contact, avant l'action du réactif. Les vraies spores, au contraire, ne changent pas d'aspect ; or, il est établi que beaucoup de spores de moisissure ne sont attaquées que par l'acide sulfurique concentré. Enfin, les mêmes corpuscules brillants, soumis à l'action de la teinture d'iode, se colorent en



Fig. III.

brun, révélant ainsi leur nature protoplasmatique. Ces corpuscules ne sont donc autre chose que du protoplasma qui, par suite des conditions spéciales dans lesquelles a végété le champignon, a pris cette disposition tout à fait particulière.

C'est à un phénomène du même genre qu'il faut attribuer la présence de certains organismes singuliers, renflés à une extrémité, amincis à l'autre, qu'on rencontre quelquefois au

milieu des filaments mycéliens, et qu'il est souvent impossible de rattacher à telle ou telle partie du végétal. La figure IV représente en A deux de ces corps, observés dans l'hydrolat de tilleul. Tantôt l'extrémité renflée ne présente qu'une vacuole centrale, tantôt elle en offre plusieurs diversement réparties. Evidemment, on ne saurait voir dans ces éléments déformés l'origine de sporanges, bien qu'on ait cru pouvoir interpréter ainsi des formes analogues observées dans un *Oïdium.*

Les organes reproducteurs peuvent éprouver eux-mêmes des modifications du même ordre. La même figure IV, en B, peut

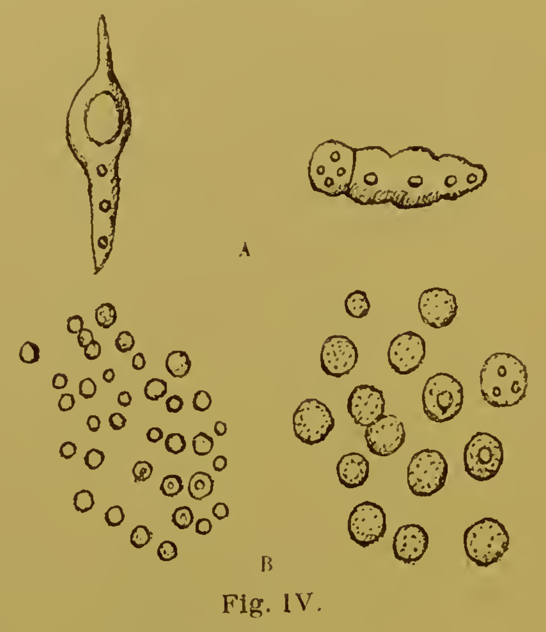


Fig. IV.

en donner une idée. A côté de spores normales, on en voit d'autres démesurément gonflées. Parmi ces dernières, les unes ont un contenu homogène, les autres, au contraire, renferment des vacuoles ou des granulations. Toutes ces formes bizarres reconnaissent les mêmes causes, végétation dans l'eau, privation d'air, absence ou insuffisance d'éléments nourriciers.

Ces conditions particulières, source d'une végétation pénible, m'ont permis de vérifier encore certaines observations relatives au mode de production des aerospores, qui constituent, chez les champignons qui m'occupent — et je dois maintenant

insister sur ce point — l'organe de reproduction par excellence. L'appareil reproducteur des *Hygrocrocis* des hydrolats est, en effet, des plus rudimentaires ; il est représenté par de simples conidies, spores asexuées, de forme sphérique, à contenu homogène, incolore, diversement groupées, mais se présentant le plus souvent en amas. On n'observe plus là, en un mot, cette variété d'organes reproducteurs signalés chez d'autres *Hygrocrocis (Hygrocrocis arsenicus* notamment, Dr L. Marchand, *loc. cit.*). C'est en me basant sur la constance de ces conidies, qui semblent résumer tout le système reproducteur de ces *Hygrocrocis*, que j'ai cru devoir proposer pour eux le nom d'*Hygrocrocis hydrolatorum*.

Mais, revenant au mode de production des acrospores en général, dont je parlais tout à l'heure, je dois rappeler tout d'abord que M. de Seynes *(loc. cit.)* a publié des observations fort intéressantes qui conduisent à considérer la cellule mère de ces acrospores comme une véritable thèque, et que ce savant a expérimenté en plaçant le champignon dans des conditions capables de ralentir sa nutrition ; or, la végétation des moisissures dans les hydrolats exerce précisément la même influence ; ce fait explique comment, sans avoir pris de précautions spéciales, j'ai pu observer des phénomènes analogues à ceux décrits par cet observateur, et permet en même temps d'interpréter les particularités que je vais décrire.

J'ai rencontré, en effet, plusieurs fois, dans les dépôts des hydrolats, des séries de spores qui semblaient s'être développées dans une même cellule mère. Cette dernière, née elle-même du sommet d'un filament, présentait deux, trois, quatre et quelquefois cinq masses protoplasmatiques, sphériques, dont elle suivait exactement les contours. Le sommet de cette cellule mère, presque toujours arrondi, présentait parfois une partie légèrement saillante et amincie, correspondant vraisemblablement au point où une spore venait de se détacher. La cloison de séparation n'apparaissait souvent qu'à ce niveau,

circonstance qu'il faut attribuer à une sorte d'arrêt de développement. La figure V reproduit, en A, ces particularités. Mais j'ai pu observer nettement, dans plusieurs cas, les cloisons de séparation, répondant aux points où la cellule mère, étranglée, disparaît. La conséquence de ce fait est la mise en liberté des spores. On peut remarquer d'ailleurs que les éléments ont ici les caractères morphologiques des champignons vivant dans les hydrolats.

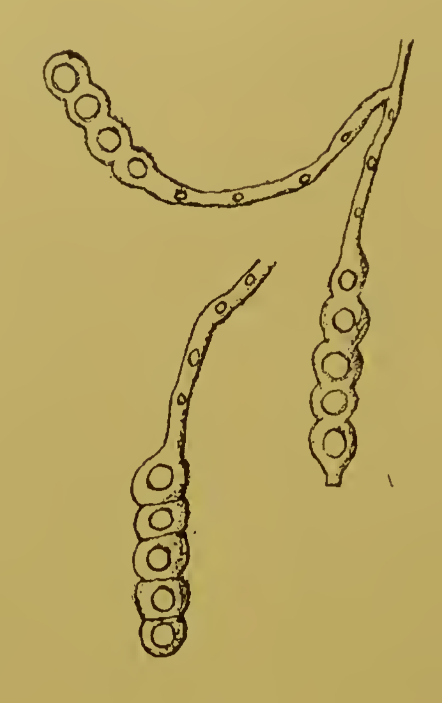


Fig. V.

J'ai donné à entendre précédemment que l'examen de la forme aquicole d'un champignon ne permet pas d'ordinaire de le classer, pour cette raison que les *Hygrocrocis* des hydrolats se ressemblent plus ou moins ; il est cependant intéressant de pouvoir attribuer un nom au végétal qu'on a sous les yeux ; je dirai plus, il est nécessaire de le faire, à moins de se condamner à observer sans conclure. Or, à ce point de vue, la culture des organismes constitue la méthode la plus sûre. Ce procédé, il faut le reconnaitre, n'est pas sans offrir

certaines difficultés ; un premier écueil se présente souvent ; il arrive fréquemment, en effet, qu'après avoir soumis à la culture des spores trouvées sous le microscope, on constate que celles-ci ne germent pas, et, par conséquent, ne donnent pas de mycélium ; ces spores sont mortes, en un mot, et mortes sans que leur aspect ait sensiblement changé. Cette action est très rapide dans un flacon rempli et bouché ; c'est la privation d'air qui, dans ce cas, fait périr les spores, l'eau dans laquelle elles sont plongées exerçant d'ailleurs une certaine influence, mais une influence moins active. Mais, rencontre-t-on des spores bien vivantes, qu'on se heurte encore à d'autres difficultés ; ces spores appartiennent souvent à différents HYPHOMYCÈTES, de telle sorte qu'elles produisent en germant, un mélange de moisissures très-voisines, dont la différenciation est parfois difficile.

On peut effectuer les cultures de deux façons. Lorsqu'il s'agit, par exemple, d'une détermination rapide, il est commode de se servir d'une simple modification de l'appareil proposé par MM. Van Tieghem et Le Monnier. Sur une lame porte-objet ordinaire, on colle un cadre en papier d'étain, destiné à supporter une lamelle, l'espace ménagé entre la lame et la lamelle étant tel que les spores ne soient pas gênées par la pression de l'appareil. On ajoute à la préparation une ou deux gouttes de liquide nourricier, et on abandonne le tout pendant deux ou trois jours sous une cloche de verre, à l'abri des poussières.

Lorsqu'on veut obtenir des résultats plus précis, il est nécessaire de s'entourer des précautions habituelles, au point de vue de la stérilisation des liquides et des appareils ou instruments.

J'ai employé pour ces cultures, tantôt le liquide Raulin, tantôt une modification de la solution Pasteur (*V. in. C. R. Acad. des sc., T. II.*), dont voici la formule :

Acétate d'ammoniaque. . . .	1 gr.
Phosphate de soude.	0 50
Sucre	0.50
Eau distillée	10.00

Quel que soit le liquide employé, il est nécessaire de le stériliser ; or, une température de 100° est suffisante pour détruire les germes de Mucédinées répandus dans l'atmosphère ; on portera donc le liquide à l'ébullition pendant dix minutes, et on le conservera dans un matras à col effilé, garni d'un tampon de ouate.

Pour la culture des organismes, on peut se servir avec avantage de petits matras de verre à fond plat, dans lesquels on répartit le liquide fertile avec les précautions ordinaires ; c'est ainsi qu'on doit faire usage de pipettes asseptiques : on stérilise facilement ces instruments, par simple flambage, ou on les chauffant à 200° pendant une heure. Dans ce dernier cas, il y a intérêt à préparer à l'avance un certain nombre de pipettes, selon la méthode conseillée par M. Miquel (in Manuel pratique d'analyse bactériologique des eaux, 1891, page 43) ; ces pipettes sont enfermées dans des tubes à essais, dont l'orifice est oblitéré par un tampon serré de coton. Lorsqu'on veut s'en servir, on enflamme ce tampon, et la pipelette est retirée de sa gaîne protectrice. L'orifice supérieur de ces petits instruments est muni d'une bourre d'amiante ou de laine de verre.

Les matras doivent être eux-mêmes parfaitement stérilisés, ce qu'on réalise en les soumettant à une température telle que la bourre de coton dont on a garni leur col commence à roussir.

Lorsque toutes ces conditions sont remplies, on effectue l'ensemencement, ou l'introduction des spores dans le liquide nourricier, à l'aide d'un fil de platine, ou d'une aiguille d'acier, préalablement passés dans la flamme d'une lampe à alcool. Au bout de quelques jours, on soumet les végétations qui se sont développées à l'examen microscopique.

Après ces données générales sur les phénomènes biologiques des champignons inférieurs vivant dans l'eau, et sur les méthodes de culture qui leur sont applicables, j'ai à faire connaître les différents types que j'ai pu observer et que je me suis efforcé de classer.

C'est la division des *Trichosporés* de Léveillé (groupe des *Ascomycètes* (*Thécosporées*, d'après les classifications plus récentes) (1), qui m'a fourni les premiers exemples de champignons des hydrolats. L'eau de rose cultivée m'a permis, en



Fig. VI.

effet, d'observer un représentant du genre *Cephalosporium*, Cord., représenté par la figure VI. Si l'on se reporte aux caractères de ce genre, *Cephalosporium* (κεφαλή, tête, σπορά, spore), on peut constater que le végétal que je reproduis les réunit d'une façon évidente : « Filaments ramifiés, continus, d'où se détachent des branches droites, dressées, non cloisonnées, à extrémité légèrement effilée, sur laquelle sont

(1) *Guide pratique pour les travaux de micrographie*, H. Beauregard et V. Galippe, 1888, p. 326.

groupées en capitule un grand nombre de spores simples et sphériques ». J'ai pu observer d'ailleurs les capitules à différents degrés de développement, depuis ceux qui n'étaient formés que de quelques spores jusqu'à ceux qui en comprenaient un grand nombre.

Je crois devoir rappeler que le genre *Cephalosporium* appartient, dans la classification de Léveillé, à la tribu des *Céphalosporés*, sous-division des *Phycocladés*.

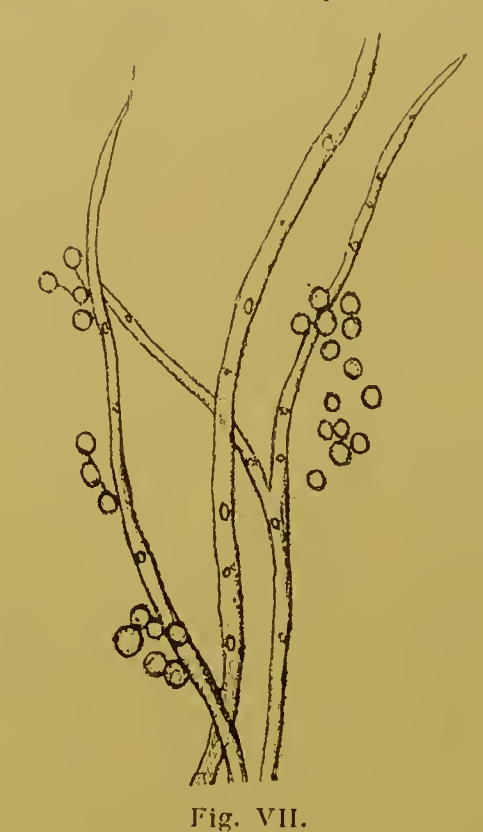


Fig. VII.

Dans cette même sous-division des *Phycocladés*, tribu des *Oxycladés*, qu'on doit considérer aujourd'hui comme se rattachant aux *Pyrénomycètes*, et à laquelle semble appartenir aussi ce genre *Cephalosporium* dont je viens de parler, dans cette sous-division des *Phycocladés*, dis-je, se trouve compris un autre champignon que j'ai rencontré dans l'hydrolat de roses. C'est un représentant de la section des *Botrytidés* et du genre *Botrytis* (βότρυς, grappe). La figure VII reproduit ce

petit champignon ; il est constitué par des filaments mycéliens cloisonnés, de couleur grisâtre. Le contenu de ces filaments, au lieu d'être, comme à l'ordinaire, transparent et homogène, se montre granuleux. Mais cette particularité ne saurait nous surprendre. M. Robin l'a déjà signalée dans le *Botrytis Bassiana,* en faisant observer que les granulations sont plus ou moins nombreuses, suivant les conditions dans lesquelles se développe le champignon. Ici, ces conditions nous sont connues ; elles résident dans la présence d'un milieu aqueux. La figure montre encore les filaments réceptaculaires, également granuleux, partant du mycélium, et formés d'un seul tube. Les spores, uniloculaires, sont sphériques ou subovoïdes, à contenu homogène, dépourvu de granulations. Elles se montrent soit adhérentes aux filaments, soit groupées en plus ou moins grand nombre. Or, ce sont là les caractères du genre *Botrytis,* du moins tel que l'admettait Micheli (*Nov. gen. pl.*). Je dois faire remarquer, en effet, que des observations plus récentes ont conduit à interpréter différemment ces caractères, en faisant intervenir un nouvel élément de détermination. C'est ainsi que M. de Seynes *(in Dict. bot.* Baillon) a montré que le mode de ramification du réceptable présente ici une grande importance, et peut servir à caractériser certains genres. Si ce mode de ramification, au lieu d'être déterminé *(Botrytis)*, est indéterminé, on a un *Strachylidium ;* l'ancien *Botrytis Bastiana* se trouve ainsi compris dans ce genre *Strachylidium.* Or, le champignon que reproduit la figure VII présente précisément cette ramification indéterminée ; on est donc autorisé à le considérer non plus comme un véritable *Botrytis*, mais comme un *Strachylidium.*

Plusieurs *Penicillium*, que j'ai rencontrés dans beaucoup d'hydrolats, et notamment dans ceux de tilleul, de roses, de menthe, me conduisent des *Trichosporés* de Léveillé aux *Arthrosporés* du même auteur. Il faut noter, d'ailleurs, que ces *Penicillium* sont considérés aujourd'hui comme se rattachant aux

Tubéracées, parmi les *Ascomycètes*, tandis que le mycologue que je viens de citer les plaçait dans la sous-division des *Horminscinés* et dans la tribu des *Aspergillés*. La nature du mycélium et des filaments réceptaculaires, mais surtout le mode de ramification et de sporulation de ces derniers, me paraissent caractériser suffisamment ces petits champignons. La figure reproduit, entre beaucoup d'autres, un *Penicillium* que

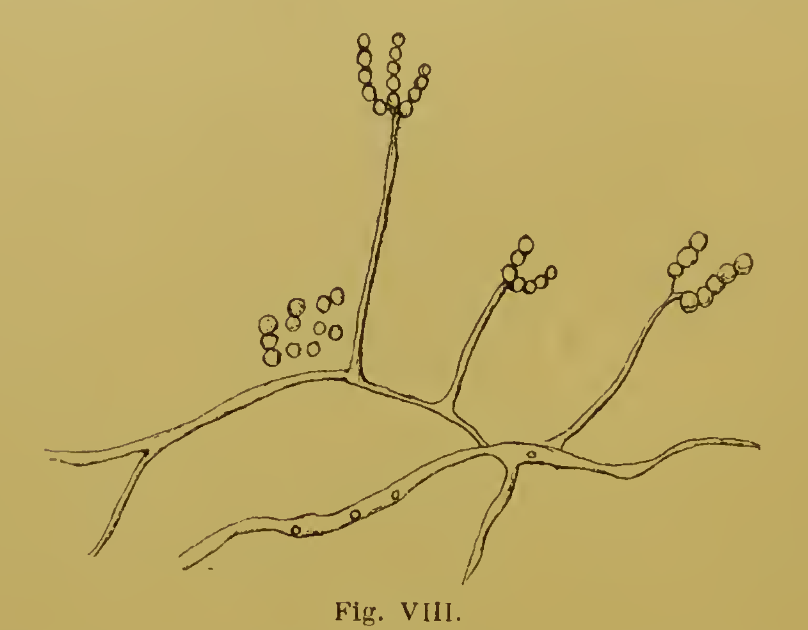


Fig. VIII.

j'ai observé en soumettant, à la culture un mycélium trouvé dans l'hydrolat de tilleul ; sous cette influence, le mycélium, d'abord stérile, a produit des spores, en prenant une légère teinte jaunâtre, ou jaune verdâtre ; c'est ainsi que j'ai pu le considérer comme un *Penicillium glaucum*. Je le répète, ce type est très fréquent parmi les organismes des hydrolats ; c'est à lui que se rattachent un grand nombre des productions filamenteuses aquicoles (*Hygrocrocis*), qu'on y observe.

La tribu des *Ordiés*, qui fait suite à celle des *Aspergillés* mais que l'on doit rattacher aujourd'hui aux *Périsporiacées* du groupe des *Ascomycètes*, possède encore plusieurs représentants parmi les champignons des hydrolats. Je dois citer tout d'abord ceux que j'ai pu observer dans les eaux distillées

de tilleul et de laitue, et qui présentaient les caractères suivants : Filaments cloisonnés d'espace en espace, et légèrement étranglés à ce niveau ; quelques-uns flexueux, et présentant une ou plusieurs ramifications. Celles-ci possédaient d'ailleurs la même organisation que les filaments eux-mêmes, avec lesquels elles étaient en général articulées. L'extrémité libre ou sporifère des filaments ou de leurs ramifications était d'ordinaire arrondie, mais quelquefois formée par une ou plusieurs cellules ovoïdes, séparées des précédentes par un étranglement très prononcé. Soumis à la culture dans la liqueur de Raulin, quelques-uns des filaments donnèrent des spores sphériques, à bords nets et foncés, à cavité transparente. Ces spores étaient en amas, groupées autour de l'extrémité des filaments ; or, on sait que M. Robin a déjà signalé cette disposition dans un *Oidium* (M. Ch. Robin, *Végétaux parasites).*

Je crois devoir rapprocher de ces faits l'observation suivante, relative aux hydrolats de camomille et de mélisse : ceux-ci, déjà anciens, contenaient des végétations aquicoles d'aspect habituel, mais présentaient en outre à leur surface de petits îlots blanchâtres, de consistance ferme, tranchant nettement sur celle des flocons. Au microscope, j'observai des sortes de croûtes noirâtres, qui, dissociées avec précaution, montrèrent une foule de spores sphériques, à peu de choses près, puis quelques rares filaments, courts et perdus dans une sorte de matière amorphe, de couleur grisâtre. Soumises à la culture, ces productions donnèrent naissance à des filaments nombreux, entrelacés, simples, rarement ramifiés, quelquefois cloisonnés, portant çà et là une, deux ou plusieurs spores attachées à leur sommet ; quelques-uns de ces organes reproducteurs étaient libres au milieu des filaments. On retrouvait là, en un mot (fig. IX), les caractères des *Oïdium*, Link. J'ajoute que si l'on adopte l'opinion de Reess, ceux-ci doivent quitter les Mucédinées, pour se rapprocher des *Saccharomyces*.

La culture de flocons contenus dans l'hydrolat de laitue

m'a donné des organismes voisins des précédents. Au bout de quelques jours de contact avec le liquide nourricier, ces flocons ont présenté les caractères suivants : nombreux filaments mycéliens entrelacés, les uns simples, les autres ramifiés, quelques-uns pâles, le plus grand nombre gris-noirâtre, certains renflés à leur extrémité. Cette partie renflée contenait une spore, et paraissait en avoir produit une série ; ces spores, qu'on voyait



Fig. IX.

çà et là, isolées, ou réunies par deux ou plusieurs, étaient sphériques, à contours très nets, et réfringentes au centre.

Ces végétations, que je rapporte aux *Aspergillus*, empruntaient d'ailleurs — et cette remarque peut s'appliquer à une foule d'autres cultures faites dans des conditions analogues, — empruntaient, dis-je, des caractères un peu spéciaux à la présence d'un milieu liquide, bien que celui-ci fût un liquide nourricier. C'est ainsi que les filaments mycéliens avaient pris un développement extraordinaire, sans présenter toutefois

les déformations qu'on observe avec la végétation dans l'eau.

Voici un exemple bien caractéristique de cette influence de l'eau, exemple qui m'a été fourni par l'hydrolat de valériane. Préparé depuis une quinzaine de jours, cet hydrolat renfermait des flocons présentant cette particularité que le plus grand nombre flottaient à la surface du liquide; ces flocons présentaient une coloration jaunâtre par places, tandis que ceux qui se trouvaient au fond du flacon étaient opalins et blanchâtres. Le seul fait de la végétation à la surface du liquide, fait très rare chez les hydrolats, avait imprimé aux organismes des caractères particuliers ; en effet, les organes reproducteurs étaient ici très nombreux ; ils étaient représentés par des spores sphériques, à contenu homogène, groupés en plus ou moins grand nombre à l'extrémité des ramifications des filaments fertiles. Ceux-ci étaient grêles, non cloisonnés. On observait au milieu d'eux les filaments mycéliens proprement dits, d'un diamètre bien supérieur, filaments cloisonnés, grisâtres, contenant çà et là des granulations confuses. Je n'ai pu trouver d'autres organes reproducteurs que ces spores conidiennes ; mais, ces végétations, par l'ensemble de leurs caractères, me paraissent appartenir aux *Mucorinées* (du groupe des *Zygomycètes*).

En examinant au microscope les flocons qui nageaient au fond du flacon, je constatai qu'ils présentaient déjà quelques déformations; certains étaient toruleux, gonflés par places; les spores, beaucoup plus rares, étaient elles-mêmes tuméfiées; on retrouvait là, en un mot, certains caractères de la forme *Hygrocrocis*, qu'on rattache précisément aujourd'hui à ce groupe des *Zygomycètes*.

Tels sont les principaux types qu'on peut observer dans les hydrolats ; je dois ajouter toutefois que, sous l'influence de circonstances difficiles à préciser, mais qui semblent se rattacher à la composition même des eaux distillées, on peut y rencontrer encore quelques *Schizomycètes* inférieurs, ayant conservé leur aspect caractéristique. Je peux citer notamment les

organismes que j'ai observés à deux reprises dans l'hydrolat de fleurs d'oranger, et que je reproduis figure X. On peut voir que les spores s'insèrent directement sur le mycélium filamenteux presque nul, dont quelques filaments deviennent fertiles. L'appareil végétatif est donc ici aussi simple que possible, puisque nous voyons le mycélium, très réduit lui-même, jouer le rôle de réceptacle. Nous arrivons ainsi à l'une des phases propres aux ferments, à l'état *toruleux*, en un mot, que Léveillé considérait, dans la classification que j'ai eu l'occasion de rappeler, comme correspondant à un groupe de champignons autonomes, celui des *Torulacés*, caractérisés comme suit : Réceptacle floconneux, nul ou presque nul, spores continues.

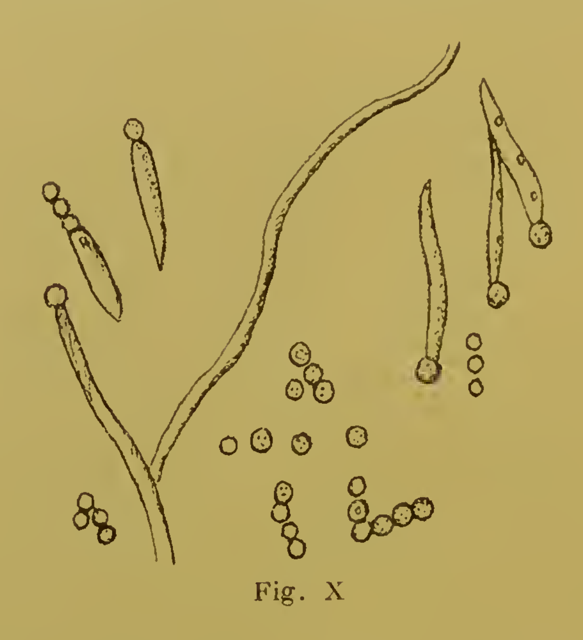


Fig. X

A côté de ces *protophytes*, je ne fais que mentionner certains myceliums stériles que l'on peut observer çà et là au sein des hydrolats, mycéliums compris autrefois dans les genres *Ozonium* et *Himantia*, du groupe des Mucédinées, mais que l'on doit placer, d'après les récentes recherches de M. le professeur Marchand, dans la série des *Himantia*, subdivision des *Asporomycés-aconydiés*, classe des *Mycophytés*, sous-classe des *Mycomycophytes* (M. Léon Marchand, *loc. cit.*).

Je passe maintenant à un groupe d'organismes qui, distincts des précédents par certaines particularités de structure, s'y rattachent néanmoins intimement ; je veux parler des *Dématiées* (1). Je ne reviendrai pas sur leurs caractères, et me bornerai à décrire comme type un champignon noir que j'ai observé dans l'hydrolat de tilleul (v. fig. XI). On peut voir que le mycélium, raide et coloré en noir, donne naissance à des filaments droits, dressés, présentant la même teinte noire'

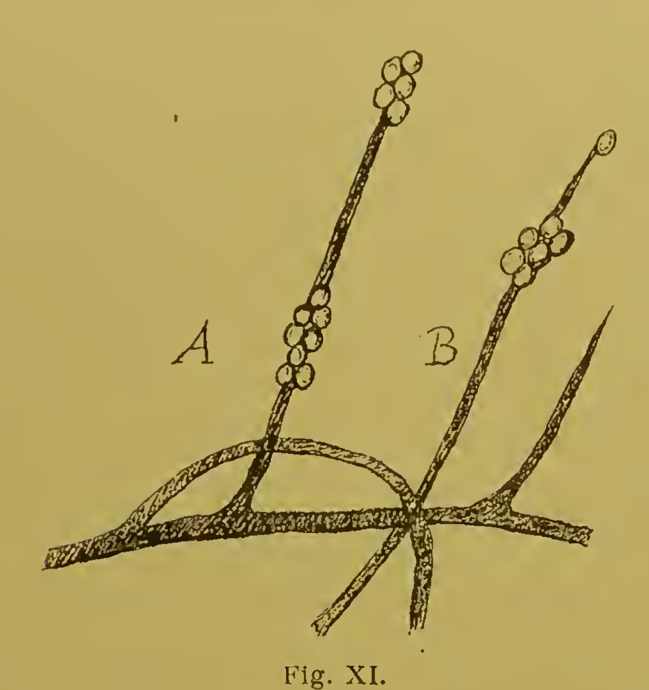


Fig. XI.

et portant des spores globuleuses. Celles-ci affectent même dans la figure une disposition intéressante ; le champignon, soumis à la culture, m'a donné, en effet, des sortes de glomérules espacés le long des filaments. La fig. XI montre, en A, deux glomérules complètement formés, et en B, au-dessus d'un premier glomérule parfaitement développé, un second, qui prend seulement naissance. Or, il n'est pas sans intérêt de rappeler que cette disposition rappelle tout à fait celle

(1) Cooke et Berkeley, *les Champignons*, p. 68.

qu'a décrite M. Bertillon pour les champignons *Stéphanidés* (στέφανος, guirlande).

J'ai encore observé dans les hydrolats de roses et de fleurs d'oranger des mycéliums noirs, à l'état stérile, qui semblent être à la forme Dématiée ce que les *Himansia, Ozonium*, par exemple, sont aux Hyphomycètes en général, des appareils végétatifs dépourvus d'organes reproducteurs.

CHAPITRE II

Bactéries

Les bactéries sont répandues partout, aussi bien dans l'atmosphère que sur le sol ou dans les eaux ; on devait donc s'attendre à les rencontrer au sein des hydrolats. N'est-ce pas des infusoires *(protophytes-schizophycètes)* que M. L. Marchand a dit : « Aucune eau, du reste, n'en est exempte, et nous verrons que les panspermistes en ont trouvé jusque dans l'eau distillée » (M. L. Marchand, *Botanique cryptogamique*, 2e fascicule, p. 235). Qu'il me soit permis néanmoins de rappeler, bien que le fait ait peut-être par lui-même peu d'importance, que l'auteur de ce travail a été le premier à publier des observations suivies à ce sujet, et que les bactéries des hydrolats semblent avoir été jusque-là un peu négligées (1).

Ces bactéries des eaux distillées constituent cependant un chapitre fort intéressant de leur histoire. Elles s'y trouvent bien plus fréquemment qu'on ne l'admettait généralement, et beaucoup de productions qu'on attribuait aux *Schizomycètes*, ne sont, en réalité, que des Bactériens. Il est vrai que la place qui revient à ces organismes, dans la série végétale, a été longtemps fort incertaine : champignons pour les uns, algues pour les autres, ces végétaux ont souvent autant de points de contact avec un groupe qu'avec l'autre. Aujourd'hui cependant, le type bactérie est suffisamment caractérisé pour qu'on

(1) H. Barnouvin, *in Hygiène pratique*, 20 janvier 1884.
» *in Répert. de pharmacie*, 1887, p. 475, etc.

puisse y rattacher les organismes qui font l'objet de cette étude (1).

Les bactéries qui envahissent les eaux distillées se présentent le plus souvent sous l'aspect de productions blanchâtres, de consistance tantôt mucilagineuse, tantôt granuleuse, flottant au sein même du liquide, ou se déposant au fond. Un grand nombre de ces végétations, par suite de leur viscosité, sont parfois presque insaisissables ; lorsqu'on parvient à en déposer quelques traces sur la lame porte-objet, la simple pression de la lamelle suffit pour les chasser hors du champ du microscope ; elles glissent, en quelque sorte, sur la lame de verre ; aussi faut-il se décider à multiplier les préparations.

Les bactéries des hydrolats sont des plus variées. Il me paraît donc nécessaire, pour apporter un peu de méthode dans leur énumération, d'adopter une classification qui permette de rattacher ces différentes bactéries à un groupe donné. Je n'entreprendrai pas de discuter ici les nombreuses classifications qui ont été proposées pour les bactéries en général, classifications basées sur les dimensions, la forme, les mouvements, l'évolution de ces organismes (classifications de Cohn, Rabenhorst, Flügge, Zopf, v. H. Beauregard et V. Galippe, *loc. cit.*) ; je dois avant tout avoir en vue celle de ces classifications qui se prête le mieux au cas particulier qui m'occupe ; or, à ce point de vue, celle qu'a proposée Cohn, en 1872, et qui est basée sur la morphologie des organismes, me paraît devoir être préférée ; c'est donc celle-là que je suivrai.

Cet observateur a divisé les bactéries en quatre tribus :

1° *Sphérobactéries* ou b. globulaires ;
2° *Microbactéries* ou b. en bâtonnets courts.
3° *Desmobactéries* ou b. en filaments droits ;
4° *Spirobactéries* ou b. en filaments contournés.

(1) Il est important de rappeler que, dans un travail tout récent, M. le professeur Marchand a rangé les Bactéries dans la classe des *Phycophytes*, et les a réparties dans les deux sous-ordres des *Gléogènes coccobactériées* et des *Gléogènes bacillées* (*Synopsis et tableau synoptique des familles qui composent la classe des Phycophytes*, par M. Léon Marchand, Paris, 1895).

Les *Sphérobactéries* ne renferment que le genre *Micrococcus* Cohn. De forme arrondie ou ovale, les *Micrococcus* sont remarquables par leurs dimensions très petites, souvent inférieures à un μ. Privés de mouvement spontané, ils sont quelquefois colorés, mais le plus souvent incolores. Je les ai observés sous ces deux aspects dans les eaux distillées ; je m'occuperai donc successivement des *Micrococcus* colorés et des *Micrococcus* incolores.

Les premiers, ou *Micrococcus* chromogènes, sont d'autant plus intéressants qu'il y a peu de temps encore, les phénomènes de coloration des bactéries étaient considérés comme exceptionnels. « *Les bactéries sont ordinairement tout-à-fait incolores* », lisait-on, notamment, dans le *Dictionnaire de botanique* du professeur Baillon, article « Bactéries ». A cet égard, lés bactéries chromogènes des hydrolats méritent donc de fixer l'attention.

Je dois faire remarquer d'ailleurs — et c'est là un fait qui complique bien souvent de telles recherches — que l'apparition des bactéries chromogènes n'est pas constante ; ce serait donc une erreur de croire qu'il suffit d'avoir entre les mains tel hydrolat pour être certain d'y rencontrer l'organisme coloré qu'on recherche et qu'on a trouvé une première fois. La température exerce à ce point de vue une influence prépondérante. Voici ce que j'ai constaté à cet égard : au-dessous de 15°, on n'observe pas ordinairement de bactéries chromogènes ; c'est de 20 à 25° qu'elles apparaissent de préférence, cette dernière température étant la plus favorable à leur développement.

A différentes reprises, j'avais remarqué, dans l'hydrolat de fleurs d'oranger, la présence de flocons colorés en jaune. Vers la fin de l'année 1887 (1), j'eus de nouveau l'occasion d'y observer un dépôt offrant ce caractère. Or, voici ce que je constatai, en examinant ce dépôt, à un faible grossissement : je le trouvai formé de sortes de plaques jaunâtres, qui

(1) V. *Répert. pharm.*, 1887, p. 475.

semblaient constituées par la réunion de granulations confuses. A la faveur d'un grossissement de 500 diamètres, j'observai une foule de cellules très petites (diam. 1 μ), de couleur jaune, de forme ovale, privées de mouvements, dont quelques-unes étaient libres, mais la plupart réunies en *zooglœa*. Ces organismes, transportés dans un liquide nourricier (voir page 48), conservèrent leur couleur jaune ; celle-ci leur était donc propre ; ils répondaient d'ailleurs, par leurs caractères généraux, au *Micrococcus luteus* (Cohn), *Bacteridium luteum* (Schrœter). J'ajoute que ces productions ne sont pas spéciales à l'hydrolat de fleurs d'oranger ; j'ai observé, en effet, des organismes de même nature dans l'eau distillée de menthe notamment.

L'hydrolat de tilleul m'a permis d'observer des bactéries à pigment rose, lesquelles, si je m'en rapporte à mes observations, sont relativement rares dans les eaux distillées.

C'est là un des phénomènes les plus intéressants qu'il soit donné d'observer. Tout d'abord, l'eau est incolore ; puis, peu à peu, on constate au fond du flacon l'apparition d'une teinte rosée, qui s'accentue bientôt. Au bout de huit ou dix jours, si rien ne vient troubler cette eau, la coloration a atteint toute son intensité, sans dépasser le rose pâle. Si l'on agite cette eau, le dépôt rose disparaît ; mais, au bout d'une douzaine d'heures, il devient de nouveau apparent. Les organismes sont constitués par des cellules ovoïdes (diam. 0, μ 5 à 1 μ), entremêlées à une *zooglœa* abondante, et paraissant répondre au *Micrococcus prodigiosus* Cohn, *Bacillus prodigiosus*, avec cette différence toutefois que la coloration rose est beaucoup moins intense que pour celui-ci. Je dois ajouter d'ailleurs que la culture de ces organismes sur le lait ou la gélatine nutritive ne m'a donné que des résultats fort problématiques : ainsi que je viens de le dire, du reste, ces productions roses sont rares, et il ne m'a pas été possible par suite de renouveler certains essais comme je l'aurais voulu.

Je ne saurais trop insister sur ce fait, qui confirme ce que

j'ai déjà dit page 39, que l'apparition de ces productions roses est des plus inconstantes ; il ne suffit pas, en un mot, de les avoir observées dans un hydrolat donné, pour être certain de les y rencontrer une autre fois : c'est ainsi qu'il m'est arrivé d'attendre deux ou trois ans — et cela en variant les échantillons — pour les voir apparaître dans une eau distillée où je les avais trouvées une première fois.

Je dois rapprocher de cette observation les faits suivants, relatifs aux bactéries colorées de l'hydrolat de mélilot. Celui-ci ne contenait tout d'abord que des flocons blanchâtres, opalins, qui présentèrent bientôt une coloration rose du plus joli effet. Je tentai de soumettre ces flocons à l'examen microscopique : mais, chose singulière, le seul fait de les avoir agités modifia complètement leur aspect, de telle sorte qu'au lieu d'organismes colorés, je ne trouvai plus qu'un amas de petites cellules (inférieures à 1 μ), de forme globulaire, tout à fait incolores, englobées dans une *zooglœa* abondante. J'essayai en vain de faire apparaître de nouveau la coloration rose, en soumettant l'hydrolat à la culture sur le liquide de Cohn. Cette disparition du pigment rose se rattache évidemment à l'ordre de phénomènes qu'a décrits M. Warming, à propos de certaines bactéries rouges, qui perdent de même leur coloration sous des influences diverses, une vive agitation notamment (Warming : *Observations sur quelques bactéries des côtes de Danemark*. Copenhague, 1876). Cette observation me conduit à rappeler que la matière colorante des bactéries chromogènes peut être soluble ou insoluble dans l'eau ; de là deux divisions : *Micrococcus* à pigment soluble, et *Micrococcus* à pigment insoluble. C'est à ces derniers qu'appartiennent les organismes colorés des hydrolats de fleurs d'oranger, de menthe et de tilleul ; mais j'ai constaté que d'autres hydrolats renferment quelquefois des bactéries à pigment soluble. Je peux citer, comme premier exemple, celles que j'ai observées dans l'eau distillée de roses. Voici, en effet, le phénomène remarquable que m'a

présenté cet hydrolat. Je trouvai, dans un flacon d'eau de roses, exposé en pleine lumière, un dépôt d'un rose très intense. L'examen microscopique de ce dépôt me permit de constater qu'il était formé de cellules ovales, rosées, très petites (diam. inférieur à 1 μ), très rapprochées et paraissant réunies par une matière visqueuse interposée. La culture sur gélatine nutritive a donné des colonies rosées, ne liquéfiant pas la gélatine (*Micrococcus roseus* de Flügge). Ayant abandonné ce flacon à lui-même, je remarquai, quelques jours après, que le dépôt était devenu complètement incolore, tandis que l'eau elle-même avait pris, au contraire, une teinte rose très manifeste; le pigment s'était donc dissous dans l'eau. Ce phénomème était des plus saisissants, et cette transformation en quelque sorte spontanée d'une eau incolore en une eau colorée semblait véritablement merveilleuse. Cet hydrolat se décolora d'ailleurs de lui-même, au bout de quelques jours; puis, j'observai de nouveau quelques organismes colorés: là s'arrêtèrent les constatations qu'il me fut possible de faire.

A côté de ces *Micrococcus* de l'hydrolat de roses, je dois citer ceux de l'hydrolat de menthe, qui lui communiquent fréquemment une coloration jaune. Ce sont des cocci ovales, (diamètre voisin de 1 μ), réunis en *zooglœa*, donnant des colonies jaunes sur la gélatine nutritive, qu'ils ne liquéfient pas. Ces bactéries (*Micrococcus aurantiacus* Cohn), forment des dépôts de couleur jaune orangé, tandis que l'hydrolat lui-même prend une teinte jaunâtre très manifeste.

Les eaux distillées de sureau et de fleurs d'oranger peuvent elles-mêmes donner asile à des bactéries chromogènes à pigment soluble, lequel est doué d'une très grande inaltérabilité, si j'en juge par les échantillons que j'ai eus entre les mains. L'eau qui contient ce pigment est colorée en jaune-verdâtre dans toute sa masse; les bactéries se trouvent au fond des flacons; ces bactéries sont des *Micrococcus* ovales, ayant à peine 1 μ de diamètre, réunis en *zooglœa*, donnant

sur les liquides nourriciers une couche jaune verdâtre (*M. chlorinus* Cohn).

Pour compléter ces données relatives aux bactéries colorées des hydrolats, je crois utile de mentionner les productions à peine teintées en jaune-verdâtre que j'ai rencontrées, à différentes reprises, dans des échantillons déjà anciens, d'eau de menthe et de laitue, et qui me paraissent de même nature que celles de l'hydrolat de sureau. Ces productions se présentent quelquefois seules, mais souvent aussi au milieu de bactéries incolores, filamenteuses (*Leptothrix*), ou globulaires (*Micrococcus*), au milieu desquelles elles disparaissent alors, tellement leur pigment est pâle et peu abondant. Au microscope, à l'aide d'un grossissement moyen, on les distingue sous l'aspect d'une sorte de mucilage jaune verdâtre, sans caractères morphologiques précis ; ce n'est qu'à la faveur d'un fort grossissement qu'on peut y reconnaître de très petites cellules ovalaires (de o μ, 5), à peine teintées, et noyées en quelque sorte au milieu d'une matière muqueuse abondante, avec laquelle elles semblent se confondre. L'union de ces différents éléments est si intime qu'on pourrait croire tout d'abord que la substance de la *zooglœa* est elle-même pigmentée. J'ajoute que ces végétations se conduisent avec les liquides nourriciers comme les organismes de l'eau de sureau.

Il est souvent difficile d'interpréter la nature exacte de tels dépôts. En raison de leur coloration verdâtre, on serait porté à les considérer comme des algues véritables, si les caractères qu'affectent ces *zooglœa* n'avaient pas quelque chose de spécial. Il faut remarquer, en effet, que la matière visqueuse qui réunit ces organismes est non seulement amorphe, sans structure appréciable, mais encore sans cohésion, presque fluide et à l'état de magma. Chez les algues inférieures, au contraire, qui présentent quelquefois aussi une substance visqueuse interposée, celle-ci affecte toujours des caractères bien différents, gaine gélatineuse chez les unes, membrane unie et

homogène chez les autres. Ces signes différentiels, que confirme d'ailleurs l'action des réactifs (potasse, qui fluidifie les faux *zooglœa*, alcool qui les contracte), sont-ils assez tranchés pour permettre de distinguer sûrement les vraies *zooglœa* des bactéries de la matière visqueuse des algues inférieures ? On ne saurait l'affirmer sans témérité, bien que ces caractères aient une réelle valeur. Au reste, nous sommes ici à la limite des bactéries et des algues inférieures, de ces végétaux microscopiques dont Rabenhorst disait : « *Species mihi partim ignotæ, partim dubiæ* » (Rabenhorst, *Flora Europæa Algarum*). Quoiqu'il en soit, les caractères généraux de ces productions verdâtres autorisent à les rattacher au *Micrococcus chlorinus* de Cohn, et par conséquent à les considérer comme des bactéries.

Les bactéries chromogènes ont été l'objet de nombreux travaux (1). Les pigments sécrétés par les bactéries des hydrolats ont été étudiés eux-mêmes, il y a peu de temps encore, par M. Viron (2). Cet observateur a signalé notamment une eau de fleurs d'oranger présentant une couleur rouge : cette eau perdait sa coloration lorsqu'elle était filtrée au filtre Chamberland, ce qui prouve que la matière colorante était fixée sur les micro-organismes en suspension dans le liquide. Il a réussi néanmoins à isoler cette matière colorante, qui présente les caractères de la zoohérythrine, et à laquelle il propose de donner le nom d'aurantio-purpurine ; ce pigment est insoluble dans l'eau, soluble dans l'alcool, l'éther, le chloroforme et le sulfure de carbone ; il bleuit par l'acide sulfurique : l'air et la lumière le décolorent.

Voici les résultats que j'ai obtenus moi-même au cours de mes recherches sur ces pigments : — *Action du noir animal :* La plupart des matières pigmentaires des hydrolats sont fixées

(1) Warming. Observat. sur quelques bactéries des côtes du Danemark. Copenhague, 1876. — Giard. Etude sur une bactérie chromogène des eaux de rouissage du lin, Mars 1877, v. in Rev. des sc. nat. de Montpellier. — H. Barnouvin, *in* Répert. de pharm. 1887, page 475, etc.

(2) C. R. Acad. des sc., janvier 1892.

par le noir ; exemple : Hydrolats de fleurs d'oranger, de sureau, de cochléaria (1). — *Action de l'acide sulfureux :* Cet acide décolore l'hydrolat de sureau et l'hydrolat de cochléaria ; il est sans action sur le pigment de l'eau de fleurs d'oranger, et sur le pigment insoluble de l'hydrolat de menthe. — *Action de l'acide chlorhydrique :* Cet acide décolore les hydrolats de sureau, de cochléaria ; il décolore tout d'abord l'eau de fleurs d'oranger, mais lui communique, au bout de quelques instants, une teinte rosée très légère ; il est sans action sur le pigment insoluble de l'hydrolat de menthe. — *Action de l'acide sulfurique :* Cet acide décolore les hydrolats de fleurs d'oranger, de sureau, de cochléaria ; il est sans action sur le pigment insoluble de l'eau de menthe. — *Action des alcalis :* Les alcalis ne modifient aucun des pigments ci-dessus. — *Air et Lumière :* Sans action sur ces pigments.

Je crois devoir ajouter que le pigment de l'hydrolat de fleurs d'oranger est fixe ; on peut obtenir, en effet, un hydrolat tout-à-fait incolore en soumettant à la distillation de l'eau de fleur d'oranger verte.

Je me réserve enfin de montrer plus loin, à propos de l'essai des eaux distillées, que la présence des matières pigmentaires sécrétées par les bactéries peut expliquer l'action de certains réactifs sur ces eaux.

Les bactéries colorées des hydrolats semblent limitées aux *Sphérobactéries* ; je dis « *semblent* », car en un pareil sujet, il faut toujours craindre d'être trop affirmatif.

Je dois m'arrêter maintenant aux bactéries incolores qui, d'ailleurs, sont bien plus fréquentes.

L'étude de ces organismes est souvent laborieuse. La présence d'un pigment, chez les chromogènes, constitue un indice précieux, capable de diriger l'analyste, et qui ne lui permet guère, en tous cas, de confondre ces végétaux avec certaines

(1) V. Répert. de pharm., décembre 1894, p. 531, et novembre 1895, p. 481.

formes d'algues ou de champignons inférieurs. Mais il n'en est pas de même lorsqu'il s'agit des bactéries. Les dimensions souvent extrêmement réduites de ces êtres, la similitude de leurs formes, leur ressemblance avec quelques organismes appartenant à des groupes cryptogamiques voisins, enfin, leur mélange fréquent dans un même hydrolat, sont autant de difficultés qui viennent arrêter l'observateur. La détermination du type bactérie est sans doute relativement facile; mais il faut bien avouer qu'une telle détermination n'est pas toujours suffisante et ne constitue pas une solution assez précise pour un problème de cette nature: encore faut-il pouvoir dire si tel organisme des eaux distillées est un *Micrococcus*, si tel autre appartient aux *Bacterium* ou aux *Bacillus*, voire même aux *Leptothrix* ou aux *Vibro (Spirillum)*. Ne se présente-t-il pas d'ailleurs des cas où la diagnose du groupe lui-même est chose fort délicate? On trouve, par exemple, dans quelques hydrolats, des organismes allongés et grêles, réunis en faisceaux plus ou moins enchevêtrés, qu'on est fort embarrassé de rattacher aux bactéries ou aux champignons inférieurs; pour ma part, j'ai observé, à différentes reprises, des végétations filamenteuses, à contours indécis, constituées en réalité par des *Leptothrix*, mais qui se confondaient avec certains *Hygrocrocis* amincis et stériles; je suis même porté à croire qu'on a parfois considéré comme des myséliums de champignons transformés des organismes filamenteux appartenant aux bactéries filiformes. Aussi ne saurait-on trop s'appliquer à bien connaître les différentes bactéries de nos hydrolats: il me paraît d'autant plus opportun de le faire, qu'il y a peu d'années encore, ainsi que je le rappelais au commencement de ce chapitre, on ne possédait sur ce point que des observations peu nombreuses.

Voyons donc quelles sont les bactéries incolores qui peuvent végéter dans les eaux distillées. Conformément à l'ordre que j'ai adopté, je dois considérer d'abord les *Sphérobactéries*

ou bactéries globulaires, et, par conséquent, le genre *Micrococcus*, qui nous a déjà permis d'observer des bactéries chromogènes.

J'ai trouvé des *Micrococcus* incolores dans l'hydrolat de mélilot. Un échantillon de cette eau, limpide d'abord, ne tarda pas à présenter des flocons opalins, légèrement muqueux, qui gagnèrent bientôt le fond du flacon. Au microscope, les organismes qui constituaient ces flocons se montrèrent sous deux aspects différents que je reproduis figure XII. En A, on voit de petits groupes de *Micrococcus* très rapprochés



Fig. XII.

les uns des autres, formant de véritables familles cellulaires, dont les individus étaient d'ailleurs isolés et libres, et dépourvus, par conséquent, de matière muqueuse interposée ; les autres en B, étaient disposés en ligne droite, alignés en quelque sorte, rappelant absolument les *Micrococcus* au rang de Cohn (*Beiträge zur Biologie der Pflanzen*, 1875, Band. II. Taf XV), et se montraient tantôt tout à fait isolés, tantôt réunis par deux (*Diplococcus*), quelquefois en chaînes de plusieurs articles (*Streptococcus*). Ces organismes présentaient un diam. de 1 à 2 μ.

Il était permis de supposer que cette dernière disposition correspondait à une division par scissiparité, ce mode de multiplication étant très fréquent chez beaucoup de bactéries.

J'ai donc tenté de vérifier cette hypothèse, en soumettant à la culture une partie du dépôt (1). Mais cette tentative est restée à peu près infructueuse ; j'ai pu constater seulement que quelques *Micrococcus* augmentaient de volume, tandis que la plupart se conduisaient comme une matière inerte : ces organismes étaient donc morts pour la plus grande partie. Il faut noter que les bactéries qui présentaient ces particularités occupaient déjà le fond du flacon, au moment où elles furent soumises à l'examen microscopique ; or, beaucoup de bactéries des hydrolats semblent se comporter ainsi ; dès qu'elles ont absorbé la matière organique qu'elles avaient à leur disposition, elles cessent de se diviser, puis dépérissent et finissent par gagner le fond des flacons, où elles s'accumulent sous forme d'un dépôt plus ou moins abondant. Cette action est souvent rapide dans certains hydrolats ; il existe évidemment une relation entre la composition des eaux distillées et la durée de la végétation des bactéries ; certaines substances sont propres à en assurer le développement, tandis que d'autres deviennent bientôt insuffisantes à ce point de vue ; de là ces dépôts d'aspect granuleux et amorphe, qu'on peut observer dans un certain nombre d'hydrolats. Il y a dans ces faits le point de départ de recherches intéressantes, mais qui ne pourront être entreprises avec fruit que le jour où l'on possèdera, sur la composition des eaux distillées, en général, les notions qui nous manquent encore.

Si, des *Sphérobactéries*, je passe aux *Microbactéries*, je dois constater que je n'en ai pas rencontré au sein des hydrolats ; j'ai donc tout lieu de penser que leur présence n'y est qu'exceptionnelle. Par contre, les eaux distillées contiennent

(1) On peut se servir avec avantage, ainsi que je l'ai fait, pour la culture des bactéries en général, du liquide artificiel de Cohn, modifié par Meyer (*In* Guide pratique de micrographie, H. Beauregard et V. Galippe), dont voici la formule : Eau dist. 20 gr., phosphate de potasse 0,1, sulfate de magnésie 0,1, phosphate de chaux tribasique 0,01, tartrate p'ammoniaque 0,2.

souvent des organismes appartenant au groupe suivant, celui des *Desmobactéries*. J'en citerai, comme premier exemple, un dépôt trouvé dans un flacon d'hydrolat de tilleul déjà ancien, et qui était constitué en grande partie par des *Bacillus*. Je constatai, en effet (v. fig. XIII) qu'il était formé de filaments droits, très minces, allongés, sans articulations apparentes, dont les uns, à contours peu nets, présentaient un contenu homogène et quelquefois grisâtre, tandis que les autres, plus nettement



Fig. XIII.

limités, renfermaient de petits corps sphériques, représentant des spores, ainsi que je m'en suis assuré par la culture dans les liquides nourriciers. J'ai constaté que la réaction de l'hydrolat était alors très légèrement alcaline. Ces organismes, cultivés sur gélatine nutritive, la modifiaient à peine.

La localisation des spores concordait avec ce fait, aujourd'hui bien établi, que certains *Bacillus* donnent des spores globulaires qui se développent ainsi dans l'intérieur des articles. J'ajoute que les caractères généraux des *Bacillus* de l'eau de

tilleul m'ont paru analogues à ceux du *Bacillus subtilis* de Cohn (Cohn, *loc. cit.*, Band. II, Taf. XVI).

A la suite des *Bacillus* des hydrolats, je dois mentionner les *Leptothrix,* groupe d'organismes qui paraît être intermédiaire entre les bactéries véritables et les algues, tout en se rapprochant beaucoup plus des premières. Nous voyons donc reparaître ici cette importante question de l'affinité des deux groupes; il est certain qu'arrivé à cette limite, et, suivant que les organismes en observation sont incolores ou légèrement teintés, on peut les considérer comme des bactéries ou les rapprocher des algues. Quoi qu'il en soit, les *Leptothrix* des hydrolats me parais-



Fig. XIV.

sent réunir les caractères que l'on attribue généralement aux bactéries. J'ai rencontré ces végétations dans plusieurs échantillons d'eaux distillées (eau de menthe, de mélilot, de mélisse). Elles s'y présentent sous forme de dépôts mucilagineux et incolores. Au microscope (v. fig. XIV), on observe des amas de filaments très longs et très minces, d'aspect visqueux, tout à fait incolores, indistinctement articulés, tantôt flexueux ou recourbés (v. même figure), tantôt presque droits (*Leptothrix rigidula* Ktz.). Leur longueur moyenne = 100 μ. L'iode les colore généralement en leur donnant une légère teinte violacée.

J'ai rencontré plusieurs fois des organismes présentant beaucoup d'analogie avec les précédents, mais contenant en outre

des granulations tantôt grisâtres et confuses, tantôt formées d'un espace circulaire brillant, nettement circonscrit par une ligne noire. Ces productions rappelaient morphologiquement les *Beggiatoa* ; les granulations étaient-elles donc du soufre ? Bien que cette hypothèse fût peu vraisemblable, je me suis assuré au moyen des réactifs (sulfure de carbone notamment), qu'on ne pouvait les considérer ainsi. J'ajoute que, dans le but de m'éclairer plus complètement sur ce point, j'ai mis en observation, pendant de long mois, et dans des conditions différentes de chaleur et de lumière, de l'hydrolat de cochléaria



Fig. XV.

qui, en raison de la présence d'huiles sulfurées, était plus favorable que tout autre au développement de bactéries appartenant à ce groupe ; or, le résultat de mes recherches a été tout à fait négatif.

J'estime qu'il faut considérer les particularités que je viens d'indiquer comme une conséquence de l'influence prolongée de l'eau.

Enfin, j'ai observé dans différents hydrolats des bactéries du dernier groupe, celui des *Spirobactéries*. Ma première constatation à cet égard a eu pour origine un dépôt recueilli dans de l'eau de menthe, déjà ancienne. Ce dépôt était

floconneux, comme visqueux, blanchâtre par places, grisâtre dans d'autres. Au microscope, j'observai des sortes de traînées, formées d'éléments courts, filiformes, légèrement recourbés ou sinueux (v. fig. XV). En A, les éléments sont réunis par une matière visqueuse, hyaline, incolore ; c'est une véritable *zooglœa* ; en B, ils sont un peu plus espacés et non réunis par la matière visqueuse ; ils se présentent, en un mot, en *essaim*, mode de groupement qu'affectent souvent les bactéries filiformes.

J'ajoute que ces organismes semblaient privés de vie, et que je n'obtins aucun résultat de leur culture (v. page 48, la composition du liquide nourricier). Quoiqu'il en soit, leurs caractères morphologiques m'ont conduit à les considérer comme des bactéries du genre *Spirillum (Vibrio)*. En effet, leur corps est filiforme, plus ou moins distinctement articulé, ondulé, avec une à trois courbures (8 à 10 μ de long) *(Spirillum undulare Ehrb)*. Il n'est pas inutile de rappeler d'ailleurs que ces organismes étaient considérés, il y a peu de temps encore, comme des *Vibrio*, groupe de bactéries voisin des *Spirillum*, tellement voisin même qu'il ne peut en être séparé, d'après M. Warming.

L'eau de mélilot m'a permis d'étudier d'autres productions appartenant au même groupe, mais qui se sont présentées à l'observation sous un aspect un peu différent. Ici encore, j'ai trouvé les organismes sous la forme de *zooglœa* et sous celle d'*essaims*, mais aussi à l'état libre. Ce fait tend à montrer que la forme *zooglœa* serait plus commune chez les bactéries filiformes qu'on ne l'admet généralement.

Les *zooglœa* et les *essaims* de l'eau de mélilot n'offraient, d'ailleurs, rien de particulier. Les bactéries libres présentaient, au contraire, certains points intéressants. Elles étaient relativement très longues, d'aspect granuleux, comme formées d'une série de ponctuations. Je ne peux mieux les comparer qu'aux *Vibrio* qu'a figurés Pasteur dans ses études sur la bière, *Vibrio* que ce savant a observés dans un liquide nourricier particu-

lier, et qu'il considère comme des vibrions sans vie, épuisés, présentant la plus grande analogie avec la levûre de bière vieille, granuleuse. Les caractères particuliers des *Vibrio* (ou mieux *Spirillum*) de l'eau de mélilot reconnaissent certainement la même origine. Le liquide qui les contenait était évidemment un liquide pauvre, et ces organismes étaient tous privés de mouvement.

Mais, à côté de ces bactéries inanimées, j'en ai trouvé d'autres parfaitement vivantes. C'est un échantillon d'hydrolat de fleurs d'oranger qui m'a fourni les éléments de cette observation. Le dépôt qui s'était formé dans cet hydrolat était constitué par de petits corps recourbés ou ondulés, de véritables vibrions. Ils se présentaient tantôt en essaims, tantôt libres et disséminés ; je n'ai pu en rencontrer à l'état de *zooglœa*. Tandis que les vibrions ou essaims étaient presque tous immobiles, ceux qui se présentaient libres étaient animés de mouvements de trépidation, et même de progression. J'ai soumis ce dépôt à la culture (v. page 48, la composit. du liq.) ; sous cette influence, les mouvements des bactéries libres ont paru s'accentuer ; les bactéries immobiles d'abord sont, au contraire, restées telles. Aux caractères ci-dessus, il faut joindre les suivants : 2 à 5 courbures, 5 —, 12 μ de long. J'ai cru devoir rattacher ces bactéries au *Spirillum tenue* Ehrb.

Chapitre III

Algues

Ainsi que je l'ai dit au début de ce travail, les algues sont relativement rares dans les eaux distillées. La plupart de celles qu'on y rencontre çà et là appartiennent du reste aux espèces inférieures ; ce sont des algues unicellulaires, isolées ou réunies par une sorte de gangue ou matière interposée ; on ne trouve plus ici, en un mot, ces formes variées. ces conferves filamenteuses qu'on avait cru y observer autrefois.

Je n'ai pas à m'occuper ici des nombreuses classifications qui ont été proposées pour diviser les algues. Je me bornerai à mentionner celles qui, généralement adoptées, me permettront de classer les végétaux qu'il me reste à étudier.

MM. Decaisne et Lemaout (1) ont réuni, sous le nom de *Algæ spuriæ*, ou fausses algues, différents types inférieurs, dont M. Rabenhorst (2) a fait, à très peu de chose près, ses *Phycochromophycées*. Or, à ces algues se rattachent un certain nombre d'organismes des eaux distillées. Je citerai notamment divers *Protococcus*, *Pleurococcus*, des *Coccochloris*, des *Microhaloa* (*Palmella*, Bréb. et Lenorm.), des *Glœocapsa*.

Dans la nouvelle classification du sous-règne des Cryptogames qu'a publiée récemment M. le professeur Marchand, les Algues font partie de la classe des Phycophytes, avec les Diatomées et les Bactériens. Nous verrons par l'énumération qui va suivre que plusieurs algues des hydrolats prennent place notamment

(1) Traité de botanique, 1868.
(2) *Flora Europæa Algarum.*

dans les deux sous-classes des Phycophytes-Homoplasmées et des Phycophytes-Hétéroplasmées de cet auteur. (*Synopsis et Tableau Synoptique des familles qui composent la classe des Phycophytes*, par M. Léon Marchand, Paris, 1895.)

J'ai observé, dans différents hydrolats, un certain nombre de *Protococcus Ag.* J'en rappelle la définition : *Utriculæ globosæ liberæ et plus minusve discretæ.*

Ces *Protococcus* sont donc des cellules libres : ce caractère les distingue précisément d'organismes voisins, les *Coccochloris* Spreng. dont j'aurai à m'occuper plus loin.

Un *Protococcus* que j'ai rencontré dans l'hydrolat de tilleul n'est autre que le *Protococcus pluvialis ;* je l'ai observé dans d'autres hydrolats, mêlé avec une simple variété, colorée en rouge, et désignée sous le nom d'*Hœmatococcus*. Ces petites algues sont, comme l'on sait, de simples cellules, dont l'endochrôme consiste en un protoplasma incolore, dans lequel sont répandus, en plus ou moins grand nombre, les granules verts ou rouges. J'ai pu observer dans plusieurs préparations la division binaire de la cellule primordiale, et j'ai rencontré dans d'autres, un nombre considérable de cellules très petites, qui n'étaient que de nouveaux individus mis en liberté par la dissolution de l'enveloppe de la cellule mère.

Les *Protococcus* des hydrolats se montrent d'ailleurs fréquemment en pleine activité vitale ; témoin l'observation suivante, relative aux *Protococcus de l'hydrolat de Cochléaria* (1); ceux-ci avaient pris, en quelques jours, un grand développement, et formé au fond du flacon un dépôt abondant, non adhérent au verre ; ce flacon était exposé en pleine lumière, par une température de 24° environ ; or, on pouvait voir de petites bulles d'oxygène se dégager du milieu de ces petits végétaux et venir crever à la surface du liquide.

J'ai trouvé dans l'hydrolat de laitue, un autre *Protococcus*,

(1) Rép. de pharm., 1895, page 385.

dont les individus, très rapprochés les uns des autres, formaient de véritables amas, sans présenter toutefois de matière muqueuse interposee. Les caractères de ce *Protococcus* correspondent tout-à-fait à ceux du *Protococcus chlamydomonas* de Kützing ; « *Alivaceo-virescens, in membranam aggregatus* » (Kütz., *Tabulæ phycologicæ*).

C'est à ce groupe qu'il faut rattacher les productions vertes que j'ai observées dans l'hydrolat de matico (1).

Les *Coccochloris* Spreng représentent, pour ainsi dire, des *Protococcus*, qui se montrent épars au milieu d'une substance muqueuse, sorte de gangue mucilagineuse. Voici leur caractéristique : « *Utriculæ globosæ substrato mucoso in thallum collectæ.* »

J'ai trouvé des *Coccochloris* dans l'hydrolat de tilleul ; la matière muqueuse y était très développée ; les cellules, englobées dans cette matière, avaient formé avec elle une sorte de membrane, qui s'était moulée en quelque sorte sur le fond du flacon, et dans laquelle la coloration verte était d'abord peu apparente. Je constatai au microscope que l'apparence membraneuse était due à une matière muqueuse très abondante, au milieu de laquelle étaient éparses de petites cellules vertes, de forme à peu près sphérique.

Parmi les espèces les plus dégradées du groupe qui nous occupe, se trouvent notamment les *Microhaloa* et les *Glœcapsa*. On peut rencontrer l'un et l'autre type dans les hydrolats, sous forme de dépôts verdâtres, souvent difficiles à déterminer par un premier examen.

Je dois citer particulièrement les *Microhaloa* (*Palmella*) que j'ai obervés dans les hydrolats de menthe et de tilleul, exposés à la lumière. Ces algues se présentent au microscope sous forme d'amas de cellules très petites, d'un beau vert, dont quelques-unes sont tellement réduites qu'elles apparaissent

(1) Rép. de pharm., 1894, page 532.

comme une sorte de pigment de la matière muqueuse interposée. On retrouve là tous les caractères du *Microhaloa firma* de Kützing (*Palmella firma* Bréb. et Lenorm.) : « *Glomerulorum gonidiis minutissimis* (diam $\frac{1'''}{2000}$), *hic illic majoribus* (diam. $\frac{1'''}{100}$) *aggregatis mixtis stratum obscure æruginеum formantibus ;* » (Kützing, *loc. cit.*).

Les *Glœocapsa*, algues fort voisines des précédentes, paraissent beaucoup plus rares, au sein des hydrolats.

Les algues des eaux distillées semblent limitées du reste aux quelques types que je viens d'énumérer. Mais, on a pu croire jusqu'ici que les organismes que j'ai passés en revue, champignons, bactéries, algues, se rencontrent séparément dans les différents hydrolats : si je me suis abstenu de faire connaître mon opinion à cet égard, c'est dans le but de simplifier une étude déjà si embrouillée ; or, arrivé à ce point de mon sujet, je dois dire que, loin de se trouver isolés dans les eaux distillées, ces divers organismes y sont souvent réunis, de telle sorte qu'à côté d'un champignon, on peut trouver une bactérie, à côté d'une bactérie, une algue, et quelquefois un champignon. La réaction du liquide paraît exercer, à cet égard, une influence sur laquelle je reviendrai tout-à-l'heure. Quoiqu'il en soit, il m'est arrivé de trouver des mycéliums divers, englobés dans des *zooglœa*, d'observer des *Microhaloa* verdâtres au milieu de substances muqueuses, appartenant soit à des bactéries, soit à des algues. J'ajoute qu'il ne faudrait pas croire que telle ou telle de ces productions soit absolument spéciale à une eau distillée plutôt qu'à une autre ; mes observations sur ce point me paraissent concluantes, et je crois pouvoir dire, en m'appuyant du moins sur les exemples que j'ai étudiés, qu'il n'existe pas plus un champignon de l'eau de roses, par exemple, qu'une bactérie ou une algue de l'eau de tilleul ou de laitue. J'estime que cette opinion ne souffre que peu d'exceptions.

Chapitre IV

Altérations des hydrolats et des moyens d'y remédier

Les altérations des eaux distillées sont liées d'une façon intime à la présence des organismes qui s'y développent. Aussi, l'étude de ces organismes présente-t-elle, à ce point de vue particulier, un certain intérêt, et peut-elle servir, dans certains cas, à différencier les hydrolats altérés de ceux qui ne le sont point; quand je dis altérés, j'entends exprimer cette opinion qu'une eau distillée qui renferme une certaine quantité de ces végétations est devenue impure, au même titre qu'une eau quelconque chargée de matières organiques. On conçoit très bien d'ailleurs que la végétation des organismes que j'ai étudiés devienne pour les hydrolats une cause d'altération sérieuse, car indépendamment des fermentations qu'ils peuvent produire, ils abandonnent au milieu ambiant des principes solubles qui le modifient peu à peu.

Il était intéressant de savoir comment on peut expliquer la prédominance de tel organisme sur tel autre. Or, j'ai constaté que la réaction des hydrolats exerce, à ce point de vue, une influence très nette. Les eaux distillées étant acides, pour la plupart, au moment où elles sortent de l'alambic, donnent asile tout d'abord aux champignons, et sont exemptes le plus souvent de bactéries. Le fait est bien tranché par les hydrolats nettement acides ; mais il arrive aussi que l'acidité de certains est très faible, si faible même qu'elle n'est plus incompatible avec la vie des bactéries, surtout lorsque celles-ci y trouvent des éléments favorables à leur développement. Il n'en

est pas moins vrai que ces bactéries végètent de préférence dans les eaux distillées dont la réaction tend à devenir alcaline ; c'est précisément ce qui se produit sous l'influence du temps, de telle sorte qu'un hydrolat qui ne contenait au début que des champignons, ou même des algues, peut se remplir petit à petit de végétations nouvelles.

Ces résultats nous rendent compte de la prédominance de champignons dans les eaux distillées aromatiques et de celle des bactéries dans les hydrolats inodores. Il convient d'ajouter, d'ailleurs, que la présence des huiles essentielles, dans ces eaux aromatiques, joue à ce point de vue un rôle de préservation.

Si l'on cherche à tirer quelques indications pratiques des faits précédemment exposés, on voit : 1° Que la présence des bactéries dans un hydrolat normalement acide indique une altération avancée ; 2° que l'existence des bactéries dans une eau distillée naturellement neutre ou alcaline n'est un signe d'ancienneté qu'autant que ces bactéries sont très abondantes, et, pourrais-je ajouter, qu'elles sont privées de vie; 3° que les champignons présentent eux-mêmes, si l'on tient compte des particularités que j'ai indiquées dans la première partie de ce travail, des caractères fort importants à ce point de vue: l'observation permet de constater, en effet, que lorsque l'eau est très ancienne et par conséquent altérée, ces champignons, qui prennent alors l'aspect de flocons épais, denses, bruns ou noirs, présentent des particularités morphologiques tout à fait spéciales.

Voilà pour les champignons et les bactéries; quant aux algues vertes, leur présence est liée avant tout, comme je l'ai indiqué, à l'influence de la lumière, et ne peut fournir d'indications précieuses au point de vue des altérations des hydrolats (1).

(1) V. Nouveaux éléments de pharmacie, par A. Andouard, 1892, page 706.

J'ai à examiner maintenant si les réactifs chimiques peuvent être utilisés dans le même but que l'examen microscopique. Bon nombre d'essais ont été tentés dans ce sens (1); parmi les plus récents, je dois signaler ceux qu'a fait connaître M. Viron, et qui sont basés sur l'emploi du réactif carbazotique (2). Dans une importante communication faite à la Société de pharmacie (mai, juin 1891), l'auteur a fait connaître en détail toute la technique opératoire et indiqué les colorations variées fournies par ce réactif avec un grand nombre d'eaux distillées. Il a fait plus; il a cherché, en effet, à distinguer les eaux artificielles des eaux naturelles, en associant le réactif précité avec une solution de phénol-phtaléine, et utilisant un nouveau réactif, dit acéto-carbazotique. Je crois ne pouvoir mieux faire que de renvoyer à cet intéressant travail.

Lorsqu'il s'agit d'eaux distillées aromatiques, la plupart des réactions qui ont été conseillées tour à tour nous renseignent en somme beaucoup moins sur les altérations proprement dites de ces eaux que sur leur valeur relative, c'est-à-dire sur leur richesse en principes volatils, ou bien encore sur les conditions plus ou moins favorables qui ont présidé à leur préparation. Il faut bien reconnaître d'ailleurs que presque tous les réactifs qui seraient propres à caractériser ces altérations se trouvent mis en défaut par la présence des huiles essentielles: il en est ainsi pour les sels d'or, d'argent, le permanganate de potasse, pour ne citer que les principaux. L'emploi du réactif de Nessler, sur lequel j'avais fondé quelques espérances, ne fournit pas lui-même d'indications précises. En présence d'eaux distillées qui ont tendance à devenir ammoniacales (eau de laitue, de tilleul, etc.), ce liquide donne, il est vrai, une réaction très nette; mais il agit aussi d'une façon manifeste sur certains hydrolats, dans lesquels je n'ai pu constater trace de composés

(1) Ader, Gobley (Traité de pharm. Galénique du professeur Bourgoin).— Lepage et Patrouillard (Guide prat. d'essai des prép. pharmac.). — Lalieu (Dict. Baudrimont, 1882).

(2) In Répert. de pharm., mai, juin 1891.

ammoniacaux. D'après mes essais, l'indication fournie par le réactif de Nessler appliqué aux hydrolats n'a de valeur qu'autant qu'il y produit un précipité jaune-brunâtre ; or, ce cas est l'exception.

Je crois utile de faire remarquer dès maintenant que la présence, dans les hydrolats, des pigments de bactéries, est de nature à nous éclairer sur le mode d'action de certains réactifs appliqués aux eaux distillées en général. J'ai montré (1) que l'hydrolat de fleur d'oranger, décoloré par le noir, ne donne aucune réaction sous l'influence de l'acide nitrique, tandis que celui qui n'a pas subi l'action du charbon, se colore en rose, en présenee de cet acide. J'ai constaté récemment qu'il en est de même pour le réactif Gobley (2). En traitant, en effet, de l'eau de fleur d'oranger verdâtre par quelques gouttes de ce réactif, on observe, non pas immédiatement, mais au bout de quelques moments, une coloration rose très nette ; si l'on soumet à la même réaction de l'eau de fleurs d'oranger débarrassée du pigment verdâtre par simple distillation, et par conséquent incolore, on n'obtient, au contraire, aucune coloration. Ces faits semblent indiquer suffisamment que le réactif Gobley agit en réalité sur le pigment des bactéries chromogènes. Mais, il peut arriver aussi que ce réactif exerce une action décolorante ; témoin l'hydrolat de sureau qui, lui aussi, devient quelquefois jaune verdâtre, ainsi que je l'ai montré ; or, si l'on traite cet hydrolat ainsi coloré par le réactif Gobley, on observe une décoloration immédiate. Le pigment de l'eau distillée de sureau est donc modifié profondément par ce réactif. J'ajoute que, si l'on traite de la même façon l'hydrolat préalablement décoloré par le noir animal (ce qui a lieu très rapidement), on n'obtient aucune réaction.

Les végétations des hydrolats peuvent encore exercer leur

(1) Rép. de pharm., 1894, page 529.
(2) Rép. de pharm., 1895, page 481.

influence sur la solution normale d'iode (de MM. Lepage et Patrouillard). C'est ainsi que l'hydrolat de laitue, qui, lorsqu'il est récent, ne doit pas agir sur cette solution d'iode, la décolore, au contraire, lorsqu'il est préparé depuis longtemps : c'est, du moins, ce que j'ai constaté avec une eau de laitue ancienne, dans laquelle s'étaient développées des végétations du groupe des champignons Hyphomycètes. De même, l'hydrolat de valériane, qui est considéré comme étant très peu sensible à l'action de la solution iodée, la décolore quelquefois avec énergie, comme je l'ai observé sur un échantillon récent, mais qui contenait déjà de nombreuses *Mucédinées*. Ces faits m'autorisent à penser que la solution normale d'iode peut être influencée par les végétations qui se développent dans les hydrolats, et ne peut par suite fournir d'indications précises qu'avec les eaux distillées récemment préparées.

Les eaux distillées inodores, étant beaucoup moins chargées de principes volatils que les hydrolats aromatiques, on pouvait admettre que la proportion plus ou moins forte de permanganate de potasse, réduite par ces eaux, permettrait d'en reconnaître les altérations ; c'est ce que j'ai cherché à vérifier (1), en mettant à profit la méthode indiquée par Lalieu, pour les eaux distillées aromatiques (v. Dict. Baudrimont, 1882). Ces eaux inodores étant généralement pauvres en principes médicamenteux, on peut faire usage, pour leur essai, d'une solution très-étendue de caméléon, telle que celle qui est employée pour l'examen des eaux ordinaires (permanganate de potasse 0,3162, eau distillée 1,000). Sans m'arrêter aux détails du mode opératoire, je dois dire de suite que j'ai constaté que les hydrolats inodores consomment des quantités très-variables de permanganate de potasse ; tandis que les uns n'en détruisent que quelques centimètres cubes, sous le volume de 100 cc., d'autres en exigent beaucoup plus ; il s'ensuit que les indications

(1) In Rép. de pharm., août 1891.

fournies par cette méthode, au point de vue de l'altération des hydrolats, manquent de généralité; en outre, la proportion de matières organiques qui existent normalement dans ces eaux est trop forte, par rapport à celle des produits d'altération, pour qu'un pareil essai puisse être suffisamment rigoureux. Néanmoins, il peut servir d'indice, et c'est surtout à ce titre qu'il peut devenir utile; lorsqu'un hydrolat inodore réduit rapidement une forte proportion de caméléon, il y a donc lieu de contrôler au moins le sens du phénomène. A ce point de vue, la solution alcaline d'oxyde d'argent de Fleck (Fresenius, Anal. quant., 1885) peut être employée avec fruit; ce réactif est réduit, en effet, par les substances protéiques dissoutes et certains produits de décomposition putride; or, les hydrolats inodores altérés semblent contenir de tels principes. On le constate en les faisant bouillir, pendant quelques minutes, en présence du réactif; celui-ci donne naissance à un précipité gris, puis noir. J'ai observé moi-même cette réaction avec les hydrolats de laitue et de tilleul très anciens.

En résumé, l'essai chimique des eaux distillées, considéré au point de vue de leurs altérations, ne peut se passer, dans l'état actuel de nos connaissances, du concours de l'examen microscopique. Plus les indications fournies par celui-ci seront précises, plus il sera facile de se prononcer sur ce point.

J'aborde maintenant un côté fort important du sujet qui m'occupe. Comment protéger les hydrolats contre l'envahissement des organismes que j'ai signalés? Bon nombre de procédés ont été proposés à cet effet, procédés connus pour la plupart, et que je ne saurais m'attarder à décrire ici (1). Le problème consiste évidemment à stériliser les eaux distillées : on peut employer dans ce but les filtres, le froid, la châleur. L'embarras du choix résulte ici de la diversité

(1) V. Traité de pharm. Galénique du prof. Bourgoin, édit. 1888, p. 389-90; Rép. de pharm., mars 1893, etc.

même des organismes auxquels on peut avoir affaire ; certains germes traversent plusieurs filtres superposés ; de même, les températures extrêmes, qui détruiront certaines algues, par exemple, respecteront certains champignons, ou bien tueront ces derniers et laisseront vivre les bactéries. M. Cohn n'a-t-il pas montré que celles-ci résistent à une température inférieure à 17° ? Mais, ces difficultés ne sont pas les seules ; supposons que l'on veuille recourir aux filtres, qui constituent en somme la méthode la plus simple, l'usage de ceux-ci est forcément fort restreint ; on ne saurait penser, en effet, car il faut avant tout être pratique, à employer les procédés de filtration en usage pour les eaux ordinaires. J'ai constaté d'autre part que les filtrations à travers plusieurs filtres superposés (10, 12, 14) sont le plus souvent inefficaces. Le même procédé a d'ailleurs été employé en vain, ai-je lu depuis, pour arrêter certains germes de bactéries. Aux filtres de papier, qui peuvent abandonner quelques principes solubles, je préfère du reste le coton hydrophile, préalablement stérilisé, soit à l'autoclave, soit plus simplement, par chauffage direct à une température suffisamment élevée. On a soin, dans tous les cas, de faire usage de flacons et d'entonnoirs passés à l'eau bouillante, ou plutôt exposés pendant quelques minutes à une température de 200° environ, l'action de l'eau bouillante étant souvent insuffisante, comme je l'ai observé à différentes reprises. En dépit de ces précautions, ce procédé de filtration ne donne souvent que des résultats bien imparfaits.

Une température de plusieurs degrés au-dessous de zéro se montre d'ordinaire tout aussi inefficace. J'ai soumis, en effet, à la congélation des eaux distillées de roses, de laitue, de tilleul, etc., préalablement filtrées et enfermées dans des flacons bien clos. Or, ces eaux, revenues à l'état liquide, ont donné, au bout de quelque temps, des flocons très apparents; l'envahissement des hydrolats est moins rapide assurément, mais ne s'en produit pas moins.

Reste donc l'action de la chaleur. Il est bien évident que si nous pouvions appliquer aux eaux distillées les procédés de stérilisation employés pour d'autres liquides, le problème serait résolu ; malheureusement, on n'y saurait penser, pratiquement du moins. Mais on peut recourir à un terme moyen, qui consiste à soumettre les hydrolats, contenus dans des flacons résistants et solidement bouchés, mais non complètement remplis, à l'action d'un bain d'eau bouillante, sorte de système Appert, avec cette différence que l'ébullition doit être maintenue ici plus longtemps, pendant trois quarts d'heure, une heure même, en raison de la résistance de certains organismes à l'action de la chaleur. Nous trouvons là une application fort intéressante des travaux de M. Miquel (1) sur la disparition progressive des bactéries et autres microbes dans les eaux soumises à l'action de la chaleur. Nous voyons, en effet, que de la température ordinaire à 45°, les eaux s'appauvrissent faiblement en bactéries, que plusieurs *Micrococcus* et quelques *Bacteriums* fragiles sont cependant fortement atteints, et que si la température de 45° est longtemps maintenue, ils disparaissent peu à peu définitivement. A 50° et 55°, on constate une baisse très notable dans le nombre des organismes microscopiques vivant dans les eaux potables, ce qui est dû à la complète disparition des *Bacteriums* communs et de nombreux *Micrococcus*. A 60°, les Mucédinées, les algues, et presque tous les *Cocci* périssent à leur tour. De 60° à 80°, l'analyse n'accuse pas une diminution bien sensible du chiffre des microbes ; la plupart des bactéries adultes sont mortes, et le liquide ne renferme plus que leurs germes, qui vont eux-mêmes disparaître plus ou moins complètement sous l'action croissante de la chaleur. M. Miquel insiste sur ce point que l'ébullition, maintenue pendant quelque temps, purge l'eau d'organismes microscopiques dans la proportion de 995 sur 1000, ces chiffres n'ayant du reste rien d'absolu, et dépendant de la nature

(1) *Manuel pratique d'analyse bactériologique des eaux*, 1891, page 183

des microbes répandus dans les eaux. Bien que les hydrolats aient une composition un peu spéciale, les faits que je viens de résumer présentent un certain intérêt au point de vue de leur stérilisation. J'ajoute que la méthode que je crois devoir conseiller m'a donné des résultats satisfaisants, et j'estime que si l'on a soin, en outre, de conserver les eaux distillées dans des flacons en verre noir, placés au frais, on peut les préserver ainsi pendant longtemps des altérations qui sont la conséquence des végétations que j'ai étudiées.

CONCLUSIONS

En resumé, des faits précédemment exposés, je crois pouvoir tirer les conclusions suivantes :

1° Les végétations qui envahissent les hydrolats appartiennent aux Cryptogames inférieures. Ce sont, par ordre d'importance, des champignons, des bactéries et des algues.

2° Les champignons se présentent le plus souvent sous l'aspect d'*Hygrocrocis*, ou sous les formes aquicoles qui en dérivent. Ces champignons cultivés donnent naissance à différents HYPHOMYCÈTES.

3° Les bactéries sont tantôt colorées, tantôt incolores.

4° Les algues des hydrolats appartiennent aux algues unicellulaires.

Voici maintenant un aperçu de la répartition de ces différents organismes dans les eaux distillées, rangées d'après l'intérêt qu'elles présentent au point de vue pharmaceutique (1) :

(1) J'exprimerai la fréquence relative de tel ou tel organisme par les mots : quelquefois, souvent, très souvent, et je fais remarquer dès à présent, pour abréger, que les champignons sont toujours des *Hyphomycètes* transformés ou normaux.

I. *Hydrolat de fleurs d'oranger.*— Quelquefois champignons ; souvent bactéries chromogènes (*Micrococcus luteus, M. chlorinus*) ; quelquefois bactéries incolores (*Spirillum*).

II. *Hydrolat de menthe.* — Souvent champignons ; quelquefois bactéries chromogènes (*Micrococcus luteus, M. aurantiacus*) ; quelquefois bactéries incolores (*Leptotrix*) ; quelquefois algues (*Microhaloa, Palmella*).

III. *Hydrolat de roses.* — Très souvent champignons ; quelquefois bactéries chromogènes (*Micrococcus roseus*).

IV. *Hydrolat de laitue.* — Très souvent champignons ; quelquefois algues (*Microhaloa* (*Palmella*), *Protococcus*).

V. *Hydrolat de tilleul.* — Souvent champignons ; quelquefois bactéries chromogènes (*Micrococcus prodigiosus ?*) ; quelquefois bactéries incolores (*Bacillus subtilis*) ; quelquefois algues (*Protococcus*).

VI. *Hydrolat de laurier cerise.* — Pas de végétations cryptogamiques.

VII. *Hydrolat de cannelle.* — Pas de végétations cryptogamiques, en général, celles-ci n'apparaissant qu'exceptionnellement.

VIII. *Hydrolat d'absinthe.* — Souvent champignons.

IX. *Hydrolat d'anis vert.* — Souvent champignons.

X. *Hydrolat de valériane.* — Quelquefois champignons.

XI. *Hydrolat de bourgeons de pin.* — Champignons.

XII. *Hydrolat de camomille.* — Champignons.

XIII. *Hydrolat de cochléaria.* — Souvent champignons, quelquefois algues (*Protococcus*).

XIV. *Hydrolat d'eucalyptus.* — Quelquefois champignons.

XV. *Hydrolat d'hysope.* — Souvent champignons, affectant quelquefois la forme de levûre.

XVI. *Hydrolat de matico.* — Quelquefois champignons, quelquefois algues (*Protococcus*).

XVII. *Hydrolat de mélilot.* — Quelquefois champignons, souvent bactéries incolores (*Diplococcus, Streptococcus*, etc.), quelquefois bactéries colorées (?).

XVIII. *Hydrolat de mélisse.* — Souvent champignons, quelquefois bactéries incolores (*Leptothrix*).

XIX. *Hydrolat de pariétaire.* — Souvent champignons.

XX. *Hydrolat de plantain.* — Souvent champignons.

XI. *Hydrolat de sureau.* — Souvent champignons, quelquefois bactéries colorées (*Micrococcus chlorinus*).

XXII. *Hydrolat de valériane.* — Souvent champignons.

DEUXIÈME PARTIE

ÉTUDE DES ORGANISMES DES SOLUTÉS

L'apparition de flocons organisés dans les solutés en général est un fait bien établi ; ce n'est pas à dire pour cela que la nature même de ces flocons soit connue, ou même facile à élucider ; il m'a paru intéressant en tout cas de compléter les données que l'on possède sur une question qui se rattache par bien des points aux végétations des hydrolats.

Le fait en lui-même, ai-je dit, n'est pas nouveau ; dès 1832, en effet, le naturaliste Biasoletto, dont j'ai déjà eu l'occasion de mentionner les travaux, décrivit un certain nombre de types observés par lui dans quelques liquides médicamenteux, solutions etc. (*Biasoletto*, Trieste, 1832, *loc. cit.*). Plus tard, vers 1860, divers observateurs firent, en France, des remarques analogues (Soubeiran et Regnauld, *Traité de pharmacie*). Plus récemment, M. le professeur Marchand nous a fait connaître l'intéressant *Hygrocrocis arsenicus* des solutions arsenicales (Dr L. Marchand, *Bot. cryptogam.*, 1880). Je me suis occupé moi-même de cette question, et j'ai publié, en 1883 (*Répert. de pharm.*, 1883, p. 532), quelques résultats relatifs aux solutions d'alcaloïdes. J'ai constaté alors qu'à la liste des solutions de ce genre, favorables au développement des organismes microscopiques, liste dressée par le Dr C. Paul, il convenait d'ajouter les suivantes : solutions de bromhydrate de cicutine, de bromhydrate de quinine, de nitrate de pilocarpine, de chlorhydrate de cocaïne.

Il n'est pas de solution, pour ainsi dire, qui échappe au développement des germes que l'atmosphère peut y apporter ; on conçoit aisément, du reste, que les corps tenus en dissolution puissent jouer le rôle de véritables principes nourriciers, dont la valeur sera nécessairement différente, selon, par exemple, qu'ils seront minéraux ou organiques, azotés, hydrocarbonés ou non, etc. Les liquides de culture empruntent en somme à ces mêmes composés minéraux ou organiques leurs propriétés fertilisantes, avec cette différence que ces composés s'y trouvent réunis et dosés dans les conditions les plus favorables au but que l'on poursuit; aussi tel soluté agira-t-il comme un liquide pauvre, et donnera-t-il par suite des végétations analogues aux *Hygrocrocis*; tel autre, au contraire, se comportera-t-il comme un liquide nourricier véritable, et favorisera-t-il le développement de formes moins rudimentaires. Tout n'a pas été dit d'ailleurs sur cette question, et il serait intéressant de connaître exactement le mode d'action de certains composés sur les organismes des solutés, de savoir notamment comment agissent sur eux les corps appelés poisons; j'ai cité les solutions d'alcaloïdes végétaux, les solutions arsenicales; or, les unes et les autres renferment surtout des *Hygrocrocis*; mais je dois rappeler que la présence de l'arsenic n'est pas incompatible non plus avec la vie de certains végétaux du groupe des Algues; les Diatomées, par exemple, végètent très bien dans une eau contenant de l'acide arsénieux, ainsi que je l'ai fait connaître en 1882 (v. *Journal de pharmacie et de chimie*, mai 1882). Voici le résumé de cette observation: les organismes étaient en forme de navette ou de nacelle, et animés de mouvements très intéressants à étudier : ils semblaient glisser, en effet, ou mieux nager sur le porte-objet, tantôt en avançant, tantôt en reculant. Ils renfermaient un protoplasma coloré en brun, qui, sous l'influence de l'alcool et des acides, passait au vert, comme le fait, dans les mêmes circonstances, le protoplasma des Diatomées. Soumis à l'action d'une température élevée, soit directement, soit après

addition d'une gouttelette d'acide azotique, ces petit corps laissèrent un squelette solide, à stries très fines, une véritable carapace siliceuse. Les organismes en question étaient donc bien des Diatomées, et on peut se demander quel rôle l'arsenic pouvait bien jouer à leur égard, au point de vue physiologique. Mais, je le répète, ceci n'est pas un cas isolé, et beaucoup de solutés pourraient donner lieu à des remarques analogues.

Dans une étude de cette nature, je ne saurais passer en revue tous les solutés indistinctement, sous peine de dépasser les limites que je me suis assignées. J'ai cru, en effet, devoir faire un choix, et porter de préférence mon attention sur les solutés médicamenteux, qui, dans un travail comme celui-ci, ont leur place toute marquée.

Ce que j'ai dit des végétations des hydrolats me permettra d'ailleurs d'être beaucoup plus bref en ce qui touche les organismes des solutés. Aussi bien existe-t-il de nombreux points de contact entre les productions de ces différents liquides, et peut-on constater que les organismes qu'on y rencontre appartiennent aux mêmes groupes cryptogamiques. La principale différence à ce point de vue consiste dans la fréquence et la rareté relative des uns et des autres ; c'est ainsi que les champignons ont ici encore de nombreux représentants, tout en étant proportionnellement moins fréquents que dans les hydrolats ; les bactéries viennent ensuite, en nombre à peu près égal, mais présentent beaucoup moins de variétés; on n'observe plus là notamment, si ce n'est d'une façon exceptionnelle, ces bactéries chromogènes que j'ai signalées à propos des eaux distillées. La plupart des composés minéraux ou organiques contenus dans les solutées médicamenteux paraissent défavorables au développement de ces organismes colorés; c'est du moins ce qui résulte des nombreuses observations auxquelles je me suis livré, et qui se trouvent résumées dans les chapitres qui vont suivre. Quant aux algues vertes (algues unicellulaires d'ailleurs), leur

présence dans les solutés est tout à fait exceptionnelle; tout au plus, peut-on l'observer à la faveur de conditions particulières, dans des solutés conservés, par exemple, dans des locaux situés au voisinage de jardins ou d'arbres : mais, à part ces cas spéciaux, on doit admettre que les solutés en sont généralement exempts; aussi ne m'y arrêterai-je pas.

Conformément au plan que j'ai cru devoir suivre pour les hydrolats, je m'occuperai successivement des champignons et des bactéries des solutés, et terminerai par quelques considérations relatives à leur conservation.

Chapitre I

Champignons

L'eau distillée des officines, qui sert à préparer les différents solutés, contient souvent elle-même, bien que le fait puisse paraître extraordinaire, des flocons organisés plus ou moins apparents. Or, ceux-ci sont constitués d'ordinaire, ainsi que je l'ai constaté, par des mycéliums grêles et allongés, le plus souvent stériles, présentant exceptionnellement quelques rares conidies.

Au nombre des solutés médicamenteux propres au développement des champignons microscopiques, je dois citer particulièrement certaines solutions d'alcaloïdes et de leurs sels, en raison de l'intérêt qu'elles présentent au point de vue thérapeutique. Telles sont les suivantes :

Solution d'hyosciamine,
» de chlorhydrate de pilocarpine,
» de chlorhydrate de cocaïne,
» de chlorhydrate de morphine,
» de bromhydrate de cicutine,
» de sulfate d'atropine,
» de valérianate de quinine.

Les organismes qui végètent dans ces différentes solutions, si j'en excepte celles de chlorhydrate de cocaïne et de valérianate de quinine, sur lesquelles je reviendrai tout à l'heure, à cause des particularités qu'elles présentent, les organismes de ces solutions, dis-je, offrent tous, à peu de chose près, la même constitution : filaments amincis, grisâtres, quelquefois noirâtres (sulfate d'atropine), spores tantôt normales ou gon-

flées (hyosciamine), libres, ou enchaînées (bromhydrate de cicutine), substance granuleuse, amorphe, interposée : tels sont les caractères généraux de ces productions.

Mais, ainsi que je viens de le dire, les organismes du soluté de chlorhydrate de cocaïne présentent des particularités intéressantes. Voici une observation relative à une solution au 1/50, préparée depuis plusieurs mois. Filaments noirs, charbonneux, droits, raides, véritables bâtons ; quelques-uns seulement incurvés ; spores noires pour la plupart, sphériques, en amas, quelques-unes solitaires : parmi celles-ci, les unes normales, les autres gonflées (fig. XVI).

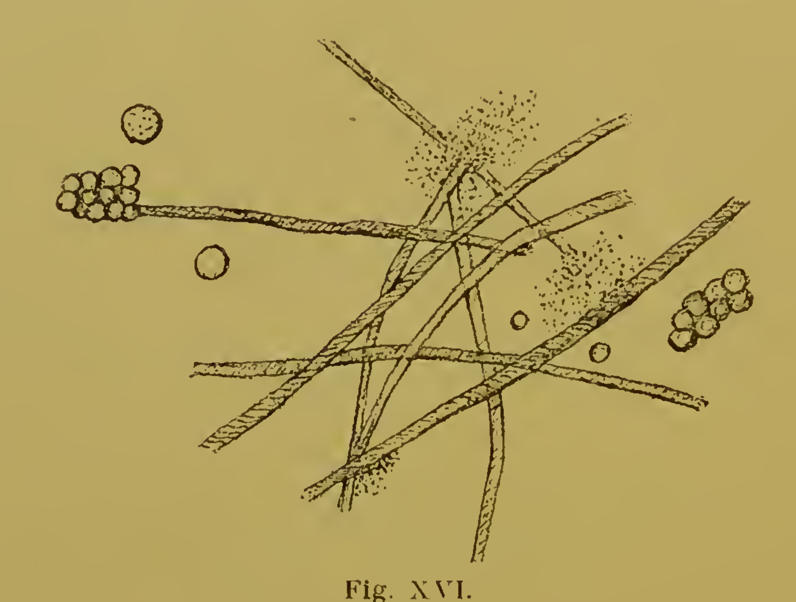


Fig. XVI.

Dans une autre préparation fournie par le même soluté, j'ai observé, outre quelques filaments et spores indiqués plus haut, des organismes très particuliers. Les uns formaient des sortes de chapelets de grosses cellules ovoïdes ou sphériques, brunâtres, à contenu homogène ; les autres étaient constitués par des cellules arrondies, très volumineuses, fixées sur une autre cellule ovoïde et amincie à la base : ces organismes étaient également brûnâtres, à contenu homogène, ou très-finement granuleux ; on voyait aussi de grosses cellules sphériques

colorées en brun, à contenu homogène, véritables spores démesurément gonflées (fig. XVII). Nous retrouvons là, en un mot, ce qu'on observe quelquefois chez les moisissures ordinaires, végétant avec insuffisance d'air, mais avec ce caractère particulier que ces organismes du soluté de chlorhydrate de cocaïne sont infiniment plus colorés que les autres. Ceci me porte à croire qu'ils dérivent des moisissures noires observées.

Les végétations du soluté de valérianate de quinine sont

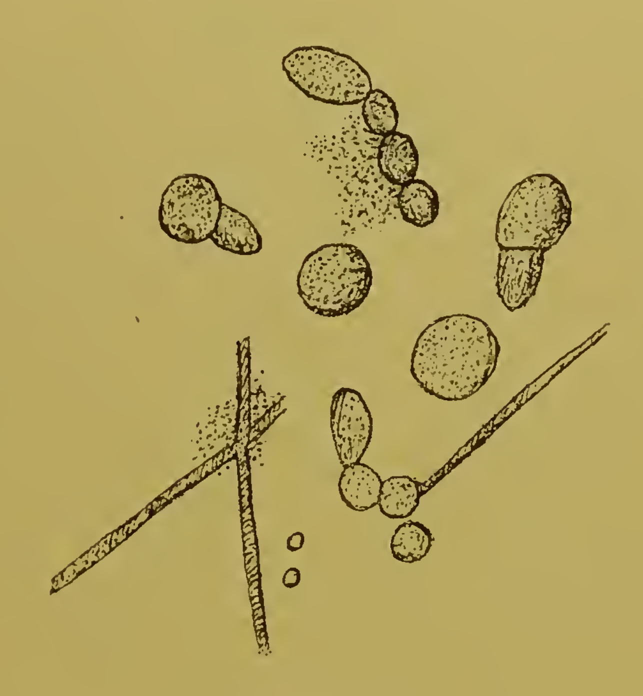


Fig. XVII.

elles-mêmes fort intéressantes à étudier, témoin l'observation suivante (1), relative à des organismes trouvés dans une solution saturée de valérianate de quinine, préparés depuis un mois. Ces organismes se présentaient sous l'aspect de flocons blancs grisâtres, qui, soumis à l'examen microscopique, sous un grossissement de 590 diam., m'ont permis de constater les

(1) H. Barnouvin, *Répert. de pharm.*, décembre 1895.

particularités suivantes : filaments mycéliens nombreux, à peu près incolores, les uns nettement cloisonnés, les autres continus, et contenant, pour la plupart, des spores sphériques ou ovales, noirâtres, à contours très accusés et contenu homogène. Çà et là, les tubes mycéliens présentent des saillies, terminées elles-mêmes par des spores offrant les mêmes caractères que ci-dessus. Au milieu de ces filaments, on observe de nombreuses



Fig. XVIII.

spores devenues libres, les unes solitaires, les autres rapprochées par deux ; on en voit aussi en voie de germination. A ces différents éléments, se trouve mêlée une matière granuleuse, semblable à celle que l'on observe en général avec les végétations aquicoles (v. fig. XVIII).

Cette disposition des spores à l'intérieur des filaments est extrêmement remarquable. Ces organes reproducteurs répon-

dent, en effet, aux chlamydospores des *Mucorinées*, auxquelles appartiennent ces végétations du soluté de valérianate de quinine. La plupart de ces spores sont des chlamydospores mycéliennes, mais quelques-unes aussi sont analogues aux chlamydospores aériennes; or, certaines *Mucorinées* présentent ces deux formes. On doit admettre d'ailleurs, avec M. Van Tieghem, que ces deux sortes de spores asexuées ont la même origine.

Si j'attache une certaine importance à cette observation, c'est que la forme chlamydée ne se rencontre guère parmi les végétations des hydrolats; il est vraisemblable que la pauvreté des eaux distillées en éléments nutritifs est un obstacle au développement de ces organes reproducteurs d'un ordre déjà élevé, et bien que ces chlamydospores du soluté de valérianate de quinine aient bien quelques caractères particuliers empruntés à ce milieu spécial, nous voyons là l'influence d'un sel organique, pouvant jouer le rôle de principe nourricier.

Peut-être n'est-il pas inutile de rappeler ici les essais que j'ai tentés dans le but de vérifier si le développement d'organismes microscopiques, dans certaines solutions d'alcaloïdes, est de nature à détruire ou à modifier ceux-ci (v. Répert. de pharm., octobre 1884). Voici notamment les résultats relatifs à des solutions de sulfate d'atropine et de chlorhydrate de morphine dans l'eau de roses, solutions faites au trois centième. J'ai choisi à dessein l'hydrolat de roses, dans lequel la production des flocons est bien plus rapide que dans l'eau distillée simple. Au bout de deux mois, les solutés ainsi préparés contenaient de nombreux flocons. Après les avoir filtrés avec soin, j'en ai soumis un volume donné (10 c.c.) à l'évaporation dans le vide, puis j'ai pesé le résidu ; or, voici les chiffres que j'ai obtenus :

Soluté de sulfate d'atropine	0,033
Soluté de chlorhydrate de morphine. .	0,022

Les alcaloïdes ainsi recueillis avaient conservé toutes leurs

propriétés caractéristiques. On voit, en outre, que, dans le cas du sulfate d'atropine, le poids du sel alcaloïdique n'a presque pas varié, mais qu'il n'en est pas tout à fait de même pour le chlorhydrate de morphine, bien que la proportion de sel détruite ne soit pas en somme très-considérable. Ces résultats semblent confirmer cette opinion que certains alcaloïdes sont beaucoup plus propres que d'autres au développement des organismes microscopiques, à l'égard desquels ils se conduisent ainsi comme de vrais principes nourriciers.

Les solutions de chlorhydrate de morphine — et je dois ajouter, celles de citrate de caféine (1) — se colorent quelquefois : la coloration se produisant ici en l'absence de tout organisme chromogène, on peut l'attribuer avec quelque vraisemblance à une purification incomplète des sels employés. La solution de chlorhydrate de morphine laisse parfois déposer en outre une certaine quantité de morphine. M. Berlioz, qui s'est occupé de cette question (2), attribue ce phénomène à l'action d'un verre trop alcalin, porté à la haute température de l'autoclave. Or, je dois dire que cette réaction particulière se produit aussi à la température ordinaire : je peux citer comme exemple un soluté de chlorhydrate de morphine, qui, conservé pendant plusieurs mois dans une armoire, a laissé déposer une partie de l'alcaloïde, sans présenter d'ailleurs un développement exagéré d'organismes microscopiques. Ce phénomène serait donc, dans tous les cas, d'ordre purement chimique.

Après les solutions d'alcaloïdes et de leurs sels, je crois devoir mentionner quelques solutés contenant des composés acides. Tels sont :

Soluté d'acide borique (à 2,50 °/₀). — Ce soluté présente, au bout de quelques semaines, des filaments très grêles, pâles, mélangés à d'autres beaucoup plus développés, colorés ou non,

(1) Voir Répert. de pharm., novembre 1895.
(2) Voir Répert. de pharm., avril 1894.

granuleux. Quelques filaments jeunes portent des spores sphériques.

Soluté d'acide phénique à 4 °/o. — Cette observation est intéressante, étant donné le milieu. Ce soluté, préparé depuis plusieurs semaines déjà, renfermait un léger dépôt, constitué par des filaments grisâtres, entremêlés d'une substance amorphe, granuleuse, et de quelques spores gris foncé, incapables d'ailleurs de germer.

Soluté d'acide lactique (au 1/10). — Ce soluté laisse développer, au bout de quinze jours environ, d'abondants flocons, opalins, blanchâtres. Au microscope, on observe un mycélium très développé, robuste, à filaments remplis de granulations brillantes. Les organes reproducteurs sont représentés par des spores sphériques, réfringentes, se présentant en amas, mais aussi enchaînées par deux, trois, ou plusieurs, affectant alors la disposition propre aux *Penicillium.* Mais, fait à noter, presque toutes sont détachées des filaments réceptaculaires. Quelques-unes de ces spores sont gonflées et granuleuses. L'influence de l'eau se fait donc sentir ici encore.

Soluté d'acide tartrique. — Suivant les conditions où il se trouve placé, suivant aussi son degré de concentration, ce soluté laisse développer des organismes différents. M. Cohn a observé, par exemple (1), dans une solution d'acide tartrique abandonnée à l'air, un organisme analogue à celui qui se produit quelquefois dans la fabrication du sucre de canne. Ce sont aussi de petites cellules hyalines, arrondies, groupées en familles globuleuses ou ovales, entourées d'une épaisse enveloppe gélatineuse, cartilagineuse même : c'est l'*Ascococcus Billrothii.*

Pour ma part, j'ai à faire connaître les deux observations suivantes : j'ai trouvé dans une première solution d'acide tartrique au $\frac{1}{10}$, préparée depuis un mois environ,. des flocons

(1) L. Marchand : *Botanique cryptogamique*, p. 257.

volumineux, d'aspect muqueux, constitués par des filaments innombrables, entrelacés, très pâles, de consistance visqueuse : ces éléments n'étaient autres évidemment que des mycéliums de *Schizomycètes*, transformés par suite de leur séjour dans ce milieu spécial. Ces flocons rappelaient tout à fait par leur consistance les organismes qui se montrent dans la fermentation visqueuse, organismes que beaucoup de naturalistes considèrent comme des algues, et placent parmi les *Schizophycètes*. Beaucoup d'organismes filamenteux analogues, qui végètent



Fig. XIX.

dans les liquides, et qu'on a considérés comme des bactéries filamenteuses, ne sont eux-mêmes, selon moi, que des *Schizomycètes* modifiés.

La seconde observation est relative à une solution d'acide tartrique au $\frac{1}{20}$, faite depuis deux mois environ. J'y trouvai des flocons blancs-grisâtres, présentant çà et là de petites taches jaunâtres, et offrant au microscope les caractères suivants : Filaments innombrables, très déliés, à contours peu accusés, à contenu granuleux et réfringent. Les organes repro-

ducteurs présentaient ce caractère particulier d'être réunis en grappes. Ils étaient constitués par des spores sphériques, à contenu homogène : quelques-unes étaient légèrement teintées, et c'est à ce fait qu'il faut attribuer la coloration jaunâtre des flocons que j'ai signalée (v. fig. XIX).

La disposition des spores est ici très remarquable ; elles naissent, en effet, à l'extrémité du sporophore, et forment par leur réunion des agglomérations ressemblant à de véritables grappes. Ces végétations correspondent donc aux *Botrytis* (βότρυς grappe). Elles sont d'autant plus intéressantes qu'on les observe rarement dans les solutés.

Après les acides, voici quelques exemples relatifs aux composés salins.

Solution de bromure de potassium au $\frac{1}{20}$.— Après une quinzaine de jours de préparation, cette solution présentait des flocons légers, petits, blancs, opalins. Au microscope, il fallait recourir à un fort grossissement pour distinguer les éléments constitutifs de ces flocons. On pouvait voir alors un véritable réseau de filaments entrelacés en tous sens, à contours très peu accentués, quoique bien nets, à contenu brillant, se présentant sous forme de petits corps sphériques ; ceux-ci étaient constitués, comme je l'ai constaté, par des corpuscules ou vacuoles du protoplasma.

Ces organismes rentrent, comme on le voit, dans la catégorie de ceux dont j'ai parlé à propos des hydrolats. Ils ne sont pas spéciaux d'ailleurs à la solution de bromure de potassium, et peuvent se rencontrer dans une foule d'autres solutés médicamenteux.

Solution de chlorate de potasse au 1/20.— Cette solution, préparée depuis plusieurs semaines, renfermait de rares flocons, à peine teintés, dont quelques-uns flottaient au sein du liquide, tandis que d'autres en occupaient le fond. Au microscope, j'observai des filaments mycéliens allongés, entremêlés de spores arrondies, réunies çà et là en chapelets, affectant nettement, en un mot, la disposition propre aux *Penicillium*. Ces

spores étaient déjà extrêmement gonflées, et devaient être, par suite, profondément altérées dans leur constitution. J'attribue à ce fait l'insuccès des essais que je tentai pour en obtenir le développement sur du citron. Cette tentative ayant échoué, en effet, j'abandonnai la solution à elle-même pendant un mois environ, puis j'observai de nouveau les flocons, qui avaient pris à ce moment une teinte plus foncée. Je constatai alors qu'ils présentaient les principaux caractères propres à la forme aquicole, dénommée *Hygrocrocis*, c'est-à-dire : filaments enchevêtrés, contournés, remplis çà et là de granulations brillantes de protoplasma, spores déformées, etc.

Solutions de citrate de magnésie. — J'ai observé, soit dans ces solutions mêmes, soit dans des limonades purgatives, de véritables moisissures, tantôt normales, tantôt modifiées par ce milieu spécial (1). C'est ainsi qu'il m'a été donné d'y rencontrer des *Penicillium glaucum* bien caractérisés, au milieu de filaments allongés, plus ou moins déformés, entrelacés de mille façons différentes. On pouvait suivre là, avec beaucoup de netteté, le passage du type normal aux formes aquicoles.

Solutions de salicylate de soude. — Ces solutions laissent souvent développer des végétations abondantes, qui présentent ce caractère particulier d'être colorées en noir. En étudiant de nouveau ces productions au microscope, j'ai constaté qu'elles consistent en filaments nombreux, enchevêtrés, noirs, dont quelques-uns sont presque rigides. Les bords de ces filaments sont nettement accusés ; ils se distinguent des *Hygrocrocis* ordinaires en ce qu'ils sont restés réguliers, sans renflements, sans déformations d'aucune sorte. Çà et là, se trouvent des spores, arrondies, incolores, les unes libres, les autres réunies par deux ou par trois. L'aspect de ces végétations rappelle tout-à-fait les moisissures noires ou *Dématiées,* dont on a fait un groupe parmi les HYPHOMYCÈTES. En les

(1) V. Répert. de pharm., avril 1885.

soumettant à la culture, j'ai constaté, après quatre ou cinq jours, la présence de filaments mycéliens abondants, présentant une teinte noirâtre, et d'un nombre considérable de spores arrondies, groupées en chapelets, affectant la disposition propre aux *Aspergillus*.

Je dois mentionner encore ce fait singulier que les solutions de salicylate de soude dans lesquelles on observe ces productions sont souvent colorées elles-mêmes en brun noirâtre ; à deux reprises différentes, ces solutions m'ont présenté ce phénomène. Tout d'abord, on serait tenté d'établir une relation entre cette coloration et l'existence des végétations elles-mêmes, s'il ne fallait se méfier ici de l'extrême sensibilité du salicylate de soude, à l'égard des sels de fer ; c'est ainsi que j'ai constaté que l'exposition à l'air libre, dans un laboratoire de chimie, d'une solution de salicylate de soude, suffit pour la colorer ; ce fait, tout extraordinaire qu'il puisse paraître, n'en est pas moins réel : il suffit, dans tous les cas, pour m'empêcher d'attribuer aux *Schizomycètes* que j'ai observés la coloration de la solution.

Solution de benzoate de soude. — Cette solution (au $\frac{1}{10}$), préparée depuis six semaines, renfermait de nombreuses végétations, dont la plupart flottaient à la surface, sous forme de petits îlots verdâtres, de consistance ferme, tandis que quelques-uns, mous et filamenteux, nageaient au sein du liquide. Les îlots de la surface étaient constitués par des amas de spores, entremêlés de filaments mycéliens, minces, mais d'un diamètre égal ; ces spores étaient sphériques, transparentes, incolores vues isolément, mais présentant en masse une coloration verdâtre ; un grand nombre de ces organes reproducteurs étaient libres et entremêlés aux filaments, au milieu desquels ils formaient comme une poussière brillante : mais beaucoup aussi étaient groupés en pinceaux serrés, qui formaient çà et là des masses verdâtres. Ces pinceaux n'étaient pas insérés directement sur le mycélium, mais étaient portés par des filaments spéciaux,

paraissant renflés à leur extrémité supérieure. Ces organismes présentaient, en résumé, les caractères de l'*Aspergillus glaucus*.

Solution de tartrate borico-potassique. — Au bout de quinze jours, cette solution (au $\frac{1}{10}$) présentait des flocons opalins, blanchâtres, flottant au sein du liquide.

En observant ces flocons au microscope, sous un grossissement de 500/1, voici ce que je constatai : Filaments mycéliens. à peu près incolores, non cloisonnés, à granulations réfringentes :



Fig XX.

filaments réceptaculaires plus grêles, à contours peu accusés et présentant çà et là des points brillants : spores très-nombreuses, sphériques, brillantes, présentant un mode de groupement fort intéressant, en ce sens qu'il m'a permis de rattacher ces végétations à un groupe d'Hyphomycètes dans lequel j'ai déjà placé certains champignons des hydrolats. Ces spores étaient situées, en effet, non plus au sommet du sporophore, comme dans les vrais *Botrytis*, mais tout le long des filaments réceptaculaires, disposition qui caractérise, comme l'on sait, les *Polyactis* (v. fig. XX).

Dans les observations qui précèdent, on a vu l'appareil végétatif prendre un grand développement, caractère propre aux Hyphomycètes en général; l'exemple que je vais citer maintenant, et que je suis porté d'ailleurs à considérer comme exceptionnel, va nous montrer, au contraire, cet appareil végétatif extrêment réduit, tandis que les spores sont devenues très nombreuses et constituent presque entièrement le champignon; nous arrivons, en un mot, aux *Coniomycètes* de Cooke et Berkeley.

Cet exemple est relatif à un soluté de sulfate de soude au 1/10. Au bout de six semaines de préparation, ce soluté contenait des sortes de houppes filamenteuses, presque noires, qui, examinées au microscope, présentaient des amas de spores globuleuses, paraissant représenter à elles seules tout le champignon, l'appareil végétatif proprement dit étant réduit à de rares filaments perdus au milieu d'une matière amorphe et noirâtre; les spores étaient limitées par une ligne noire très accusée et présentaient au centre une plage claire. La matière noire interposée, et qui contribuait à donner à l'ensemble sa couleur particulière, semblait constituée par des débris de destruction du champignon.

Le dépôt, soumis à la culture, a donné les mêmes éléments: organes reproducteurs très nombreux, filaments mycéliens rudimentaires, mais les uns et les autres beaucoup plus développés; les spores étaient, en effet, plus grosses, d'aspect plus jeune, les filaments plus vigoureux.

Chapitre II

Bactéries

Le fait de la présence des bactéries dans les solutés n'a rien qui puisse nous surprendre, puisque ces végétaux peuvent y trouver les matériaux nécessaires à leur développement. Aussi bien voyons-nous que ces organismes se contentent parfois de bien peu, car s'il faut en croire M. Meade-Bolton (1), certains *Micrococcus* et *Bacteriums* aquatiles se développeraient en grand nombre dans les eaux distillées *tout à fait pures*. A cet égard, il convient d'ailleurs de tenir grand compte de cette opinion de M. Miquel (*loc. cit.*, p. 160), à savoir qu'il est douteux que la chimie soit parvenue à trouver les moyens d'obtenir des eaux distillées tout à fait *pures* : celles qu'elle peut offrir aux micrographes renfermeront toujours des silicates, de l'acide carbonique, de l'ammoniaque, de l'oxygène et de l'azote dissous : si ces divers éléments, dit cet observateur, peuvent entretenir la vie des bactéries, il ne pourra exister d'eau microscopiquement infertile : si, au contraire, ces éléments sont incapables de favoriser l'éclosion des microbes, les *Micrococcus* aquatiles ou autres ne pourront jamais s'y développer. Or, dans le cas particulier qui m'occupe, il est bien évident que le rôle desdits éléments doit être considéré comme tout à fait secondaire, et que dans tous les cas, grâce aux

(1) *Manuel pratique d'analyse bactériologique des eaux*, du Dr Miquel, 1891, page 160.

composés en dissolution, les bactéries se trouveront dans des conditions de végétation exceptionnellement favorables.

Parmi les observations que j'ai pu recueillir, je me bornerai à mentionner les plus caractéristiques, celles qui peuvent en quelque sorte être prises pour type et donner une idée générale de la bactériologie des solutés.

Ainsi que je l'ai dit précédemment, les bactéries chromogènes se montrent ici exceptionnellement ; je devrais donc en réalité ne m'en occuper qu'en dernier lieu ; néanmoins, afin de me conformer à l'ordre que j'ai cru devoir adopter pour les hydrolats, je vais rapporter dès maintenant l'observation suivante, relative à une solution colorée de benzoate de soude.

Ce soluté (fait au dixième), exposé en pleine lumière, à une température moyenne de 20°, était resté incolore pendant plusieurs semaines, ne présentant que des flocons légers, blanchâtres, muqueux ; insensiblement, il prit une teinte légèrement rosée, qui s'accentua pendant plusieurs jours, puis demeura stationnaire. L'observation microscopique des flocons me permit de constater deux sortes d'organismes, appartenant au groupe des bactéries ; les uns, filiformes, flexueux, à contours à peine accusés, formant çà et là une sorte de lacis plus ou moins serré ; ces filaments présentaient un contenu granuleux, amorphe, le plus souvent grisâtre, quelquefois brillant ; ces organismes avaient tous les caractères des *Leptothrix* Ktz. Les autres, globulaires, tantôt libres, tantôt réunis par deux, étaient de véritables *Micrococcus, Cocci* par paires (*Diplocoques*). Ils apparaissaient mêlés aux *Leptothrix*, et étaient animés d'un mouvement de translation très accusé, dû uniquement d'ailleurs aux courants qui se produisaient sur la lame porte-objet. Ces *Micrococcus* semblaient incolores, le pigment s'étant dissous dans le liquide qui, ainsi que je l'ai dit, était devenu d'une nuance rosée très nette.

Cet exemple nous indique que, sous l'action de conditions inexpliquées, mais qui se lient vraisemblablement à l'influence

de la lumière et de la chaleur, un même soluté peut donner asile à des organismes fort différents (1).

L'observation suivante, relative à une solution de phosphate de soude au dixième, me conduit des *Sphérobactéries* chromogènes aux *Sphérobactéries* incolores.

Au bout d'une quinzaine de jours, cette solution contenait des flocons peu volumineux, légèrement muqueux, blancs-grisâtres. Au microscope, on observait toute une légion de *Micrococcus* incolores, de forme ovalaire, réunis pour la plupart en masses gélatineuses, ou *zooglœa*, les uns très petits (inférieurs à 1 μ), les autres, plus nombreux, beaucoup plus développés (1 à 2 μ). Ces organismes donnent des colonies blanches, ne liquéfiant pas la gélatine, et se colorent en rose sous l'influence de la fuschine. Ils ne sont pas spéciaux d'ailleurs à la solution de phosphate de soude ; un grand nombre de solutés renferment, en effet, des productions analogues, qui, une fois privées de vie, ce qui se produit parfois en quelques jours, se rassemblent au fond des flacons, sous forme de dépôts pulvérulents. Nous nous trouvons ici en présence de ces *Micrococcus Zymogènes*, capables de se développer dans des liquides de composition fort différente. C'est ainsi que Pasteur a signalé des organismes semblables dans certaines fermentations du tartrate d'ammoniaque et de la levûre de bière (v. notamment M. Magnin, th. sur les Bactéries, 1878, page 59).

Voici un premier exemple du développement des *Desmobactéries* dans les solutés, exemple dans lequel des *Bacillus* se trouvaient mêlés à des levûres très nombreuses, au sein d'un soluté de valérianate d'ammoniaque. Je crois devoir faire remarquer de suite que la présente observation offre un rapprochement remarquable avec la constitution du ferment

(1) Il ne faut pas oublier d'ailleurs que le polymorphisme des bactéries est admis par bon nombre d'observateurs. (Voir notamment *Guide pratique de micrographie*, de MM. Beauregard et Galippe, 2e édit., p. 254.)

qui produit le Képhir : ainsi que l'a fait connaître M. E. Bourquelot dans le résumé qu'il a fait de l'histoire de ce lait fermenté et des travaux de Kern sur le même sujet, ce ferment particulier est constitué, en effet, par des cellules de levûre et une bactérie *(Dispora Caucasica)* (E. Bourquelot, *Les fermentations*, 1893, page 120).

Le soluté en question s'était recouvert d'un voile léger, d'aspect blanchâtre, qui disparut au bout de quelques jours, pour reparaître ensuite : dans cet intervalle, un abondant dépôt, blanchâtre lui-même, véritable *détritus*, s'était formé au fond du flacon. L'examen microscopique des végétations de la surface me permit de constater l'existence d'un nombre considérable d'organismes semblables à ceux qu'on observe dans certains liquides fermentés en voie d'altération, et présentant les caractères des *Bacillus* et des levûres, les uns en forme de bâtonnets, transparents, de deux à trois μ de large et de 4 à 5 fois plus longs, contenant une ou deux vacuoles brillantes *(Bacillus megaterium)*, les autres, sphériques, ou plus souvent ovoïdes, offrant çà et là des saillies arrondies, semblables à des bourgeons, et présentant un contenu granuleux ou des sortes de globules sphériques et réfringents.

La présence seule de ces organismes aurait suffi pour déceler l'altération du liquide, si ses caractères organoleptiques n'avaient été eux-mêmes tout-à-fait significatifs à cet égard ; le soluté avait acquis, en effet, une odeur absolument différente de celle du valérianate d'ammoniaque, et, s'il est possible, beaucoup plus désagréable.

Voulant constater si ces organismes pouvaient communiquer à un liquide sain ces caractères particuliers, j'ai ensemencé, avec une petite quantité des végétations recueillies, une solution inaltérée de valérianate d'ammoniaque. Au bout de quelques jours, celle-ci s'est recouverte d'une mince membrane, blanchâtre, plissée, qui n'a pas tardé à augmenter d'épaisseur, devenant ainsi un véritable *mycoderme*. L'examen microscopique

m'a montré, en nombre considérable, les mêmes organismes en forme de levûres, que j'avais observés précédemment, tandis que les bactéries en bâtonnets, *Bacillus*, avaient presque complètement disparu. Le liquide n'en avait pas moins contracté l'odeur insupportable que j'ai signalée, ce qui indique que les organismes observés seraient la cause d'une sorte de putréfaction spéciale.

Il n'est pas rare de rencontrer dans certains solutés acides (solutés de chlorhydro-phosphate de chaux, d'acide lactique, par exemple), des flocons blanchâtres, de consistance visqueuse, qui prennent, en quelques jours, un développement considérable. Voici un exemple fourni par une solution de chlorhydrophosphate de chaux à 2 o/o. Cette solution se remplit en quelques jours de productions visqueuses, constituées par des filaments plus ou moins contournés, enchevêtrés, très allongés, d'une minceur extrême et quelquefois non mesurable, à bords peu nets, dont certains sont remplis de globules brillants, qui ne sont autres que des spores.

Tout d'abord, l'aspect de ces éléments minces, filiformes, entrelacés, fait penser aux *Hygrocrocis;* aussi, afin de m'éclairer sur ce point, ai-je espacé le plus longtemps possible mes observations; or, après trois semaines environ de végétation, j'ai constaté que, tandis qu'un petit nombre seulement de ces organismes présentaient certains caractères propres aux champignons aquicoles, la plupart avaient conservé, à peu de chose près, leur aspect primitif: bâtonnets en chaînes, formant de longs filaments (plus de 100 μ de long), remplis de spores brillantes : quelques-unes de celles-ci étaient çà et là en voie de germination. Il y avait donc là mélange d'organismes. La culture sur la gélatine nutritive m'a donné, en effet, des îlots verdâtres de *Penicillium glaucum*, et des colonies blanches, liquéfiant la gélatine, présentant des prolongements mycéloïdes, rappelant le *Bacillus mycoïdes*.

L'exemple que je viens de citer n'est pas, je le répète, un

fait isolé, et beaucoup de solutés paraissent renfermer des productions analogues.

L'observation suivante, qui m'a été fournie par une solution de nitrate de potasse au $\frac{1}{10}$, me conduit au dernier groupe des bactéries, ou *Spirobactéries*, et parmi celles-ci aux *Spirillum*.

Cette solution contenait un dépôt d'aspect granuleux, de couleur grisâtre, qui, examiné au microscope, présentait des sortes de traînées confuses de *Spirillum tenue* (déjà décrit), et constituées par des éléments très minces, légèrement recourbés ou ondulés, comme ponctués, les uns relativement allongés, les autres, au contraire, très raccourcis, ponctiformes même, et paraissant mêlés à une matière granuleuse, amorphe. Ces organismes, privés de mouvement, sont demeurés tels sous l'influence de la culture ; ils représentaient des bactéries sans vie, ayant épuisé les éléments nutritifs qu'ils avaient tout d'abord à leur disposition.

Chapitre III

Conservation des solutés

Depuis longtemps déjà, cette question de la conservation des solutés préoccupe à bon droit les praticiens; aussi de nombreuses méthodes ont-elles été proposées à ce sujet, méthodes ayant surtout pour but la préservation des solutés destinés aux injections hypodermiques. Je ne saurais évidemment les énumérer toutes; mais je dois mentionner, parmi les plus efficaces, la méthode qu'a indiquée Limousin, en 1886 (1), puis, celle qu'ont fait connaître, beaucoup plus récemment, MM. Berlioz et Dufiocq (2).

Le premier de ces observateurs a proposé de renfermer les solutés pour injections hypodermiques dans des ampoules de verre scellées à la lampe, et préalablement stérilisées par l'action d'une température de 120° environ. La solution de la substance active que doit contenir l'ampoule a, elle-même, été préparée avec de l'eau bouillie et filtrée au filtre Chamberland.

La technique indiquée par MM. Berlioz et Dufiocq est un peu plus compliquée; en voici le résumé. Ces praticiens font usage de petits tubes spéciaux en verre jaune: pour les remplir, on procède comme suit : Un récipient spécial, argenté intérieurement, reçoit la solution titrée, dont le véhicule est l'eau distillée très pure; par-dessus, on place un diaphragme métallique, également argenté, et percé de trous. Dans chacun de

(1) V. Arch. de pharm., 1886, p. 145.
(2) V. Répert. de pharm., 1894, p. 49 et 153.

ceux-ci, on engage la partie effilée du petit tube ; cette pointe plonge ainsi dans le liquide contenu dans le récipient. Tous les tubes étant placés, on recouvre avec un couvercle percé d'un trou, qui laisse passer une tige à l'extrémité de laquelle on visse ensuite un anneau.

Les choses étant ainsi disposées, l'appareil tout entier est porté à l'autoclave, où il est maintenu pendant vingt minutes à une température variant de 110 à 120°. Après refroidissement, l'appareil est retiré et placé sous une cloche à vide, dont les parois sont enduites de vaseline au sublimé, et surmontée d'une tubulure munie d'un robinet. On la met en communication avec une trompe: dès que celle-ci fonctionne, le vide se fait sous la cloche, et, par suite, dans les tubes. Cinq minutes suffisent pour l'opération. On ferme alors le robinet qui fait communiquer la cloche avec la trompe; puis on laisse rentrer l'air, en le filtrant sur un tampon d'ouate stérilisée ; la pression atmosphérique agit sur le liquide et le force à remonter dans les tubes. On enlève la cloche, et chaque tube est scellé à la lampe.

Tel est le procédé. Sans vouloir en contester la valeur, je dois avouer qu'il me paraît bien compliqué, trop compliqué même pour passer dans la pratique, et, dans tous les cas, pour être mis en œuvre dans le modeste laboratoire du pharmacien.

Il est évident d'ailleurs que ce qui est bon pour les solutions d'alcaloïdes l'est également pour les solutés en général, et qu'on peut stériliser par des méthodes analogues, une foule d'autres liquides. Les procédés de stérilisation en usage dans les laboratoires permettent d'arriver facilement à ce résultat et d'obtenir des solutés inaltérables.

Mais, entre les différentes méthodes proposées, entre les divers procédés d'une exécution plus ou moins facile, il existe un terme moyen, qui consiste à maintenir le soluté à stériliser à une température de 100°, pendant quelques minutes, un quart d'heure, par exemple ; c'est le procédé indiqué par le nouveau codex

(supplément rédigé sous la présidence de MM. les professeurs Brouardel et Planchon).

J'ai soumis à ce traitement, non-seulement les solutions d'alcaloïdes, mais aussi des solutés divers. Or, tandis que les premières résistent généralement bien, les autres laissent développer parfois des végétations plus ou moins abondantes ; je citerai notamment les solutés d'acide tartrique, de phosphate de soude, d'hypophosphite de soude. Il me paraît donc nécessaire de modifier pour ceux-ci le procédé du formulaire légal, en prolongeant l'action de l'ébullition pendant une heure au moins ; on a soin, du reste, lorsque l'air a été complètement chassé, de fermer solidement les flacons, en maintenant le bouchon au moyen d'une ficelle ou d'un fil de fer. C'est là une nouvelle application de ces observations si intéressantes, dues pour la plus grande partie à MM. Miquel et Wada, à savoir que si une eau — un soluté, dans le cas qui m'occupe — ne renferme que des *Bacteriums* et des *Micrococques*, une ébullition de quelques minutes suffit pour le purifier complètement, mais qu'il n'en est pas de même si le liquide contient certains organismes, beaucoup plus résistants : dans ce cas, on n'a quelque chance de les atteindre qu'en maintenant pendant fort longtemps l'action de cette température de 100°. Aussi la précaution que j'indique me paraît-elle tout au moins justifiée.

CONCLUSIONS

Des faits précédemment exposés, je crois pouvoir conclure ce qui suit:

1° Les organismes qui se développent dans les solutés appartiennent à peu de chose près aux mêmes groupes cryptogamiques que ceux des hydrolats.

2° Les champignons y sont encore très-fréquents.

3° Les bactéries viennent ensuite, quoique en nombre à peu près égal. Les bactéries chromogènes s'y développent rarement.

4° Par contre, la présence des algues doit être considérée comme exceptionnelle.

5° Parmi les solutés propres au développement des champignons microscopiques, il faut citer particulièrement les solutés d'alcaloïdes et de leurs sels.

TABLE DES MATIÈRES

Lille. — Typ. & Lith. Le Bigot frères, Rue Nationale, 68.